


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
LVX
FIAT
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS

ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. E. CRAMER, Heidelberg; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. J. v. FODOR, Budapest; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Oberstabsarzt Dr. A. SCHUSTER, München.

HERAUSGEGEBEN

VON

H. BUCHNER, J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O.Ö PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

MÜNCHEN STRASSBURG WIEN LEIPZIG BERLIN.

FÜNFUNDDREISSIGSTER BAND.

MÜNCHEN UND LEIPZIG.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1899.

Inhalt.

Ueber den Einfluss des Nährstoffgehaltes von Nährböden auf die Raschheit der Sporenbildung und die Zahl und Resistenz der gebildeten Sporen.

Von

Dr. **Philopimin Stephanidis,**
aus Trapezunt.

(Aus dem hygienischen Institut zu Würzburg.)

Im Würzburger hygienischen Institut hat 1890 Osborne unter Leitung von Herrn Professor K. B. Lehmann (Arch. f. Hyg., XI, 51) bewiesen, dass:

1. die absolute Grösse der Sporenernte bei gleicher Aussaat auf Nährböden von geringem Fleischextractgehalt geringer ist als auf solchen von normalem Gehalt;
2. auf erschöpften Nährböden die absolute Sporenernte ebenfalls geringer ist als auf guten;
3. dass — hierüber sind allerdings nur einige gelegentliche Beobachtungen und keine Zahlen mitgetheilt — in den spärlich gewachsenen Fäden der schlechten Nährböden die Sporen weniger dicht gelegen haben als in den üppig gewachsenen Fäden der guten Nährböden — und dass also von einer Begünstigung der Sporenbildung durch Nährböden, deren Erschöpfung früher eintritt, keine Rede sein kann.

Nimmt man das Wort Begünstigung in dem Sinne, wie es Osborne gemeint, d. h. dass die absolute Menge und wohl auch die relative Dichtigkeit der Sporen auf guten Nährböden grösser ist als auf schlechten, so ist gegen Osborne's Ausspruch nichts

einzuwenden, denn er hat 1 und 2 streng bewiesen und 3 wenigstens wahrscheinlich gemacht.

Die Hauptresultate der Arbeit wurden von Herrn Professor Lehmann in der physikalisch-medicinischen Gesellschaft zu Würzburg kurz mitgetheilt, und von demselben die Versuche in Gegensatz zu einer Ansicht von Buchner gebracht, welche nach Lehmann darin bestehen sollte, »dass eine gewisse Erschöpfung des Nährbodens bedingend oder wenigstens begünstigend für die Sporenbildung sei.«

In einer Erwiderung wies Buchner[1]) darauf hin, dass Lehmann (was in der That der Fall war) den einzigen Satz, in dem er seine Ansicht ausgesprochen hatte, nicht im Wortlaut gekannt haben könne. Derselbe lautet: »Die physiologische Ursache der Sporenbildung liegt in dem eintretenden Mangel an Ernährungsmaterial.« Diesen Satz, gegen den Lehmann nirgends aufgetreten war, stützte Buchner durch drei Versuche.

Erstens stellte er fest, dass die Sporenbildung ausblieb, wenn man in einem Schälchen mit 2 ccm Bouillon dieselbe um die üppig wachsenden Bacillen häufig erneute, dass sie aber bald eintrat, wenn man die gleichen Bacillen in einem Tropfen Bouillon züchtete.

Zweitens zeigte er, dass in sterilisirtes Wasser gebrachte Milzbrandfäden weiter Sporen bilden, während dieselben in angefaulter Fleischflüssigkeit es nicht thun und drittens, dass in 1 proc. Fleischextractlösung nach 18 Stunden bei 36,5° noch keine Sporen gebildet waren, während in 0,2 proc. Lösung Sporenbildung eingetreten war. Er schloss aus diesen Versuchen, dass in verdünnten Lösungen rascher Sporenbildung eintrete.

Ausserdem meint Buchner in dieser Arbeit, es sei wichtig, wie sich die Intensität der Sporenbildung auf verschiedenen Nährböden verhielte, resp. wie sich die Zahl der Sporen zur Zahl der Stäbchen stelle.

Da ausser Buchner's angeführten wenigen Versuchen über den zeitlichen Verlauf der Sporenbildung auf verschiedenen

1) Centralbl. f. Bact., VIII, 1.

Nährböden[1]) nichts Näheres bekannt geworden ist, und es lohnend erschien, die gelegentlichen Resultate Osborne's über die relative Intensität der Sporenbildung weiter zu verfolgen, so veranlasste mich Herr Professor Lehmann, folgende zwei Fragen gleichzeitig zu untersuchen:

1. Wie verhält sich die Raschheit und die Dichtigkeit (Intensität) der Sporenbildung auf Nährböden verschiedenen Gehaltes an Nährstoffen?
2. Wie ist unter diesen Umständen die Qualität d. h. Resistenz der Sporen gegen Schädlichkeit?

I. Ueber die Raschheit und Dichtigkeit der Sporenbildung auf verschieden reichen Nährböden.

Es sollte die Bildung der Milzbrandsporen beobachtet werden auf Nährböden mit wechselndem Gehalt an Nährsubstanz; ich benützte dazu Agarnährböden von verschiedenem Gehalt an Fleischextract, ähnlich wie Osborne, und zwar verwendete ich Wasseragar mit 1 bis $^1/_{50}$% Fleischextract. Auf all' diesen Nährböden habe ich stets Wachsthum beobachtet, auf den concentrirteren Böden war das Wachsthum wesentlich üppiger als auf den verdünnten, bei der Concentration $^1/_{50}$ nur sehr zart dentritisch. Die Impfung geschah stets in ca 4 Strichen. Die Temperatur war 37°. Niemals blieb auf einem der Nährböden die Sporenbildung aus. Die Resultate stellte ich, um übersichtlich zu sein, in 3 Tabellen zusammen, die sich nur dadurch unterscheiden, dass sie über Versuche mit verschiedenem Fleischextractgehalt berichten. Im übrigen ergänzen sich die Versuche der 3 Tabellen.

1) Vgl. auch die Arbeit von Oswald-Schreiber. Derselbe bringt über die Intensität der Sporenbildung keine Versuche, dagegen hat derselbe in einer grossen Reihe an die Versuchsanordnung von Buchner sich anschliessender Experimente in vollem Einklang mit Buchner die enorme Beschleunigung der Sporenbildung nachgewiesen durch plötzliche Versetzung älterer, ja sogar ganz junger gut ernährter Milzbrandfäden in Wasser oder Salzlösungen. Er schliesst, dass ein Mittel um so rascher Sporenbildung hervorrufe, je rascher es das Wachsthum hemmt, ohne sonst zu schaden. Cent. f. Bact., Bd. XX.

Die Tabellen geben an:

1. Nach welcher Zeit reife resp. halbreife Sporen beobachtet wurden. Selbstverständlich hat die Sporenbildung in einzelnen Fällen wohl schon etwas früher stattgefunden als sie beobachtet wurde.
2. Unter der Rubrik »Dichtigkeit« wie viel Sporen auf eine Fadenstrecke von unter Anwendung von Leiz $^1/_{12}$ Immersion im ungefärbten Präparat gezählt werden konnten. Es wurden jedesmal etwa 10 bis 20 Strecken sorgfältig gezählt und zwar Strecken, die den Eindruck machten, als ob die Sporulation hier der durchschnittlichen Sporendichtigkeit des Präparats etwa entspreche. Fäden (z. B. aus den Randparthien), die keine Sporen enthielten, wurden nie zur Verwendung der Durchschnittswerthe herangezogen. Wir verhehlen uns nicht, dass die Methode nicht frei von Willkürlichkeiten ist, nichtsdestoweniger dürften die mit möglichster Ojectivität gewonnenen zahlreichen Resultate doch einen sicheren Schluss gestatten.

Tabelle I

Versuch	In Stunden	$^1/_2$ % Fleischextract		$^1/_5$ % Fleischextract		$^1/_{10}$ % Fleischextract		$^1/_{50}$ % Fleischextract	
		Qualität	Dichtigkeit	Qualität	Dichtigkeit	Qualität	Dichtigkeit	Qualität	Dichtigkeit
I	15	halbreife Sp.	—	reife Sp.	32	reife Sp.	—	reife Sp.	27
	35	reife Sp.	80	reife Sp.	70	reife Sp.	60	reife Sp.	50
II	16	halbreife Sp.	40	reife Sp.	25	reife Sp.	22	—	—
	36	reife Sp.	45	reife Sp.	30	reife Sp.	31	—	—
III	16	unreife Sp.	—	halbreife Sp.	—	reife Sp.	40	reife Sp.	30
IV	15	halbreife Sp.	—	reife Sp.	—	—	—	—	—
	35	reife Sp.	—	reife Sp. u. freilieg. Sp.	—	—	—	—	—
V	20	reife Sp.	48	reife Sp.	30	—	—	—	—
VI	17	halbreife Sp.	34	—	—	—	—	reife Sp.	25

Versuch	In Stunden	$^1/_2$ % Fleischextract Qualität	Dichtigkeit	$^1/_5$ % Fleischextract Qualität	Dichtigkeit	$^1/_{10}$ % Fleischextract Qualität	Dichtigkeit	$^1/_{50}$ % Fleischextract Qualität	Dichtigkeit
VI	41	freilieg. Sp. u. Fäden	—	—	—	—	—	nur freilieg. Sp.	—
VII	15	halbreife Sp.	—	reife Sp.	20	—	—	—	—
VIII	15	halbreife Sp.	—	—	—	reife Sp.	25	reife Sp.	20
IX	20	reife Sp.	45	—	—	—	—	reife Sp. u. freilieg.	25
X	14	unreife Sp.	—	halbreife Sp.	25	reife Sp.	25	—	—
	32	reife Sp.	45	—	—	—	—	—	—
XII	14	—	—	halbreife Sp.	—	reife Sp.	—	—	—

Tabelle II.

Versuch	In Stunden	1 % Fleischextract Qualität	Dichtigkeit	$^1/_{10}$ % Fleischextract Qualität	Dichtigkeit
XIII	15	unreife Sp.	—	reife Sp.	—
XIV	16	halbreife Sp.	25	reife Sp.	15
XV	47	reife Sp.	48	reife u. freilieg. Sp.	30
XVI	15	halbreife Sp.	30	reife Sp.	20
XVII	15	halbreife Sp.	—	reife Sp.	22
XVIII	14	halbreife Sp.	—	reife Sp.	—
	38	reife Sp.	50	meistens freilieg. Sp.	—
XIX	14	unreife Sp.	—	reife Sp.	25

Tabelle III.

XX. Versuch	5 % Fleischextract	1 %	$^1/_2$ %	$^1/_5$ %	$^1/_{20}$ %	$^1/_{40}$ %	$^1/_{100}$ %	$^1/_{500}$ %	$^0/_0$ %
In 15 Stunden	keine Sp.	unreife Sp.	halbreife Sp.	reife Sp.	reife Sp.	prachtvolle reife Sp	reife Sp.	Prostadien (Punkte)	Fädenbildung
In 35 Stunden	Sporenbildung	—	—	—	—	—	freilieg Sp.	—	—

Ergebnisse der Versuche.

Aus den Tabellen leiten sich folgende Sätze ab:

1. Je besser der Nährboden, um so rascher ceteris paribus die Sporenbildung. Dieses Ergebnis stimmt vollkommen mit Buchner's Anschauungen. Bei $^1/_{50}$ und $^1/_{10}$ waren die Sporen nach 14 Stunden reif (früher wurde nicht untersucht, auf $^1/_5$ sind nach 15 Stunden mehrfach reife Sporen beobachtet, auf $^1/_2$ nie nach 16 Stunden, nicht vor 20 Stunden; allerdings habe ich keine Beobachtungen zwischen 17 und 20 Stunden, überhaupt genügen meine Beobachtungen noch nicht völlig zur Feststellung der Grösse der Differenz.
2. Die Dichtigkeit oder Intensität der Sporenbildung ist auf den guten Nährböden eine grössere als auf den schlechten. Sehr beträchtlich ist die Differenz nicht; immerhin liefern, wie zu erwarten, die kräftigen Fäden, die auf dem reichen Nährboden erwachsen sind, die reichere Ernte. Diese Beobachtung stimmt mit den gelegentlichen Beobachtungen von Osborne. (a. a. O.)

Während ich alle die citirten Versuche mit Aussaat von Sporenmaterial machte, das ich 10 bis 15 Minuten auf 75° erhitzte, habe ich durch eine zufällige Beobachtung veranlasst, auch einige Versuche mit Aussaat sporenfreier Fäden angestellt. Das Resultat war Sporenbildung bei 37° bei $^1/_{10}$ Agar in 8 Stunden d. h. ca. 6 Stunden früher als bei Aussaat von Sporen.

Aus der Arbeit von Schreiber geht hervor, dass auch dieser Autor beobachtet hat, dass die Sporen zur Keimung etwa 4 Stunden brauchen bis sie zu Fäden auswachsen. Es stimmt dieses Ergebnis recht gut zu meinem Befund.

II. Die Resistenz der Sporen, welche auf verschieden reichen Nährböden gebildet sind.

Die Thatsache, dass die Sporen auf schlechten Nährböden schneller als auf guten erwachsen, dass sie aber in Dichtigkeit zurückstehen, legt uns die Frage nahe: sind vielleicht die erwähnten Sporen in ihren biologischen Eigenschaften verschieden?

Um dieselben hierauf zu untersuchen, schien es mir angezeigt, ganz speciell die Resistenz gegen Hitze in's Auge zu fassen.

Ich arbeitete — unter Umgehung aller Anstrocknungsmethoden — auf Vorschlag von Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann ausschliesslich mit wässrigen Sporenemulsionen, die ich mir durch langes Schütteln einer oder zweier Oesen des Culturrasens von einer 48 stündigen Cultur in 10 ccm Wasser verschaffte. Durch 15 Minuten langes Erwärmen der so hergestellten Emulsion auf 70° befreite ich sie von Fäden und ganz unreifen Sporen.

Es wurde stets verglichen die Resistenz der Sporen von zwei gleichzeitig angelegten, mit dem gleichen Material geimpften, neben einander im Brutschrank von 37° aufbewahrten Culturen, zu denen einmal 1% Agar, einmal $^1/_{10}$ proc. Agar gedient hatte.

Die so erhaltenen Emulsionen waren natürlich nicht jedesmal von gleichem Sporengehalt, was nichts schadete, da es sich ja nur um die procentische Verminderung der Sporen durch das Erhitzen handelte.

Von jedem Stammröhrchen mit Sporenemulsion gab ich in je 5 Röhrchen, welche je 4 ccm sterilisirtes Wasser enthielten, 1 ccm. Von der verdünnten Emulsion wurden dann Zählplatten mit je 1 ccm und $^1/_2$ ccm gegossen. Es wurden dabei stets für jede neue Emulsion eine neue Pipette verwendet. Um das Abpipettiren der Sporenemulsionen gefahrlos vorzunehmen, schaltete ich zwischen Pipette und Saugschlauch eine mit conc. Schwefelsäure gefüllte Wulff'sche Flasche ein. Besondere Sorgfalt wurde darauf verwendet, die Emulsionen während des Abpipettirens stets zu schütteln, um eine gleichmässige Vertheilung der Keime zu bekommen.

Von den 5 Röhrchen mit verdünnter Sporenemulsion, die ich von jeder der beiden Sporenarten erhielt, liess ich eines unerwärmt (kalte Probe), die vier anderen stellte ich in den kochenden Dampftopf für 4, 7, 12 und 17 Minuten. Wie mir besondere Versuche zeigten, dauert es zwei Minuten, bis 5 ccm Wasser in

einem Reagenzglas in unserem Dampftopf die Maximaltemperatur von 99° erreichen, es waren also die Proben: 2, 5, 10, 15 Minuten auf die Siedetemperatur des Wassers in Würzburg erhitzt. Versuche, im Wasserbad oder Paraffinbad das Erhitzen vorzunehmen, scheiterten an dem starken Verdampfen des Wassers aus dem Röhrchen.

Sowie die Röhrchen die beabsichtigte Zeit erhitzt waren, wurden sie in kaltem Wasser abgekühlt und unmittelbar darauf zu Platten verwendet. Die Platten wurden nach 15 Stunden Wachsthum bei Bruttemperatur mit der Lupe gezählt, eine nennenswerthe Zunahme der Colonien fand dann nicht mehr statt.

Die Resultate der vielfachen Versuche gebe ich wieder in Form einer kurzen Tabelle; die eingesetzten Zahlen sind je Mittelzahlen aus den Versuchen mit $^1/_2$ ccm und 1 ccm.

(Tabelle IV und V siehe Seite 9.)

Als Resultat meiner Tabellen kann ich nur angeben:

Auf $^1/_{10}$ und $^1/_1$ Agarnährböden werden Sporen gebildet, deren Resistenz gegen Hitze nicht wesentlich verschieden ist. Bald sind die Sporen auf dem einen, bald auf dem anderen Nährboden etwas resistenter. Dagegen bestehen von Versuch zu Versuch grosse, zur Zeit noch nicht aufgeklärte Resistenzverschiedenheiten, stets aber waren auf beiden Nährböden die Sporen entweder auffallend gut oder auffallend wenig resistent. Den interessanten Ursachen dieser Differenzen wird durch besondere Untersuchungen nachzuspüren sein.

Meine Resultate fasse ich in dem Satze zusammen: Die Raschheit der Sporenbildung ist auf schlechteren Nährböden, auf denen das Wachsthum kümmerlich ist, eine grössere. Die Sporen liegen aber auf den guten Nährböden dichter, gute Ernährung der Fäden begünstigt also nicht nur die absolute, sondern auch die relative Sporenernte. Die Qualität der auf den guten und schlechten Nährböden gebildeten Sporen ist nicht wesentlich verschieden.

Tabelle IV.

Erhitzungsdauer	I. Versuch				II. Versuch				III. Versuch				IV. Versuch				V. Versuch			
	1 %		1/10 %		1 %		1/10 %		1 %		1/10 %		1 %		1/10 %		1 %		1/10 %	
	1 ccm	2×½ ccm	1 ccm	2×½ ccm	1 ccm	2×½ ccm	1 ccm	2×½ ccm	1 ccm	2×½ ccm	1 ccm	2×½ ccm	1 ccm	2×½ ccm	1 ccm	2×½ ccm	1 ccm	2×½ ccm	1 ccm	2×½ ccm
kalt	4536	5418	2672	3232	9840	12 370	24 680	35 200	8568	10 450	6005	9072	3150	3906	2835	3110	18 306	14 122	21 654	28 590
2'	51	52	72	64	325	404	573	664	0	0	0	0	0	0	0	0	408	580	604	464
5'	26	82	85	94	516	440	268	376	0	0	0	0								
10'	21	28	11	16	317	440	315	314	0	0	0	0	0	0	0	0	42	14	35	54
15'	11	16	20	18	283	206	126	202	0	0	0	0								

Erhitzungsdauer	VI. Versuch		VII. Versuch		VIII. Versuch		IX. Versuch		X. Versuch		XI. Versuch	
	1 % 1 ccm	1/10 % 1 ccm	1 % 1 ccm	1/10 % 1 ccm	1 % 1 ccm	1/10 % 1 ccm	1 % 1 ccm	1/10 % 1 ccm	1 % 1 ccm	1/10 % 1 ccm	1 % 1 ccm	1/10 % 1 ccm
kalt	18 960	24 570	16 065	38 288	5 425	9 002	11 035	7 305	17 060	9 513	1 835	2 087
2'	9 090	14 111	7 560	22 428	605	503	206	261				
10'	9	2	48	8	45	32	88	55	3 150	1 250	630	1 820

Tabelle V.

Von 1000 Sporen der kalten Platten blieben erhalten Keime:

Erhitzungsdauer	Im I. Versuch		Im II. Vers.		Im III. Vers.		Im IV. Vers.		Im V. Vers.		Im VI. Vers.		Im VII. Vers.		Im VIII. Vers.		Im IX. Vers.		Im X. Vers.		Im XI. Vers.	
	1%	1/10%	1%	1/10%	1%	1/10%	1%	1/10%	1%	1/10%	1%	1/10%	1%	1/10%	1%	1/10%	1%	1/10%	1%	1/10%	1%	1/10%
Bei 2'	10	21	17	10	0	0	0	0	30	12	480	564	450	700	120	55	19	38				
» 5'	11	30	32	5	0	0																
» 10'	5	4	17	5	0	0	0	0	2	3	0,5	0	3	0,2	9	3	8	8	185	140	341	310
» 15'	2,5	7	11	3	0	0																

Zum Schlusse spreche ich Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann für die Ueberlassung des Themas und seine fortgesetzte Unterstützung mit Rath und That bei der Durchführung derselben meinen Dank aus, auch Herrn Assistenten Dr. Appel, der mich bei der Ausführung der einzelnen Versuche vielfach unterstützte und controlirte, bin ich zu Dank verpflichtet.

Notiz über den Bacillus mycoides.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann.**

(Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

Die auf Seite 199 des Bandes XXXIV dieses Archivs von mir gemachte kurze Mittheilung kann ich heute dahin ergänzen, dass neuerdings von Herrn Dr. Neumann und mir isolirte Stämme des Bacillus mycoides deutliche Eigenbewegung wenigstens einiger Individuen zeigen. Weitere Untersuchung bleibt vorbehalten.

Beiträge zur Kenntnis der Ursachen des Rothwerdens des Fleisches beim Kochen, nebst einigen Versuchen über die Wirkung der schwefligen Säure auf die Fleischfarbe.

Von

Dr. **Karl Kisskalt**
aus Würzburg.

(Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

I. Ueber das Rothwerden des Fleisches beim Kochen.

Während für gewöhnlich der rothe Farbstoff des Fleisches beim Kochen zerstört wird, lehrt die Erfahrung im Haushalt, dass dies unter gewissen Bedingungen nicht der Fall ist, sondern dass das Fleisch manchmal nach längerem Kochen roth bleibt, resp. eine ganz eigenthümliche, vom Blutroth verschiedene carminrothe Farbe annimmt.

Ich habe mich im Folgenden auf Anregung und unter fortwährender Unterstützung mit Rath und That von Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann mit den Ursachen dieser Erscheinung beschäftigt und hoffe dieselbe jetzt befriedigend erklären zu können.

Eingezogene Erkundigungen — ich war in der glücklichen Lage, einige Versuche in einer grossen Hotelküche vornehmen und einige daselbst früher gemachte Erfahrungen benützen zu können — ergaben, dass nach der gewöhnlichen Meinung das Fleisch beim Kochen roth werden soll:

1. Wenn es in alter Bouillon gekocht wird;
2. wenn es etwa 8 Tage lang direct oder in ein Tuch gehüllt, das nicht oft genug gewechselt wurde, auf Eis gelegen hatte[1]).

Zur Controle dieser Angabe führte ich folgendes Experiment aus:

Versuch I.

Ein Stück Fleisch von der Ochsenlende, etwa 1/4 Pfund, das ungefähr 8 Tage im städtischen Kühlhaus und 2 Tage im Eisschrank aufbewahrt worden war, wurde zur Hälfte in kochende Fleischbrühe vom Tage vorher, zur anderen Hälfte in kochendes Salzwasser mit etwas Suppenwurzeln gelegt. Die Fleischbrühe war am Tage vorher aus Fleisch (25 Pfund Fleisch auf 30 l Wasser) mit Zusatz von Suppenwurzeln — Fleischbrühe mit Suppenwurzeln verdirbt leichter als ohne Suppenwurzeln — gewonnen worden und war am Tage in der Küche in einer Entfernung von 2 m vom Herde, in der Nacht in der Speisekammer (Temperatur 12°) mit einem Ueberzug von Fett in einem emaillirten, eisernen Topf aufbewahrt worden. Geruch, Geschmack, Aussehen waren normal. Nach 10 bis 15 Minut. hatte das Fleisch in der Fleischbrühe eine fast carminrothe Farbe angenommen; diese reichte bis einige Millimeter unter die Oberfläche; auch die Sehnen waren röthlich gefärbt. Die andere Hälfte des Fleisches, die in Salzwasser gekocht wurde, war, wie normal, grau geworden.

Versuch II.

Zur Controle wurde derselbe Versuch am nächsten Tage nochmals ausgeführt und zwar wurden diesmal genommen:

1. Wie vorher Fleischbrühe vom vorigen Morgen, die am Tage in der Nähe des Herdes, in der Nacht in der Speisekammer aufbewahrt worden war;
2. Fleischbrühe vom Abend vorher, die die ganze Nacht im Eisschrank gestanden war;
3. Salzwasser.

Zu jedem Versuche wurden Rindfleisch und Kalbfleisch genommen, die sich in allem völlig gleich verhielten.

Es wurde nun, wie vorher, das in 2 und in 3 gekochte Fleisch hellgrau, das in 1 gekochte schön roth, allerdings nicht so intensiv wie beim 1. Versuch. Ueberhaupt scheint es von

1) Ich bemerke hier, dass ich diesen Versuch zweimal nachgemacht habe — ohne Erfolg. Nach Abschluss der Arbeit wird es wahrscheinlich, dass er nur mit Eis gelingt, das präformirte N_2O_3 oder reducirbare N_2O_5 enthält: Das hiesige Maineis, mit dem der Versuch gemacht wurde, ist aber nitratfrei, und das Fehlschlagen des Versuchs wohl dadurch zu erklären.

verschiedenen Umständen abzuhängen, ob eine Fleischbrühe roth färben wird: so gab z. B. oft Fleischbrühe am nächsten Morgen keine Rothfärbung und ebensowenig nach einigen Tagen; oder sie gab am nächsten Tage nur schwache Rothfärbung, nach zwei weiteren Tagen keine stärkere; wieder andere gab nach zwei Tagen noch keine, nach weiteren zwei Tagen sehr schöne Rothfärbung.

Am meisten scheint die Temperatur von Einfluss zu sein: je wärmer die Tage und infolgedessen die Nächte waren, desto stärkere Rothfärbung trat im allgemeinen beim Kochen auf.

Es wurde nun zunächst vermuthet, dass die Ursache der Rothfärbung auf den Säuregehalt der Fleischbrühe beruhe, der beim Stehenlassen derselben sicher zugenommen haben musste. Deshalb wurden folgende Versuche gemacht:

Versuch III.

Zuerst wurde Bouillon, die allein nicht roth färbte, mit Säuren versetzt und zwar wurden zu diesem Zwecke Schwefelsäure, Milchsäure und salpetrige Säure gewählt. Beim Kochen damit wurde das Fleisch deutlich roth und zwar so stark wie mit wirksamer Bouillon: doch war nicht deutlich zu unterscheiden, welches Fleisch am stärksten gefärbt worden war, offenbar, weil die Menge der Säure zu gering gewählt worden war.

Hierauf wurde das Fleisch in verdünnten Säuren allein gekocht und wurde zu diesem Zweck wieder Schwefelsäure, Milchsäure und salpetrige Säure gewählt.

Versuch IV.

Die Versuche mit Schwefelsäure allein ergaben folgendes Resultat:

5 Min. langes Kochen mit 20 ccm Wasser und $^1/_2$ ccm 25 proc. Schwefelsäure — starke Rothfärbung, aber in anderer Nuancirung als beim Kochen mit Fleischbrühe: mehr in's rothgelbe spielend. $^1/_{10}$ ccm 25 proc. Schwefelsäure: ebenso, aber schwächere Rothfärbung.

2, 1, 0,5 ccm Normalschwefelsäure, ebenso, aber immer schwächer.

Versuch V.

Dieselben Resultate, also Rothfärbung je nach der Concentration der Säure, aber mit anderer Nuancirung als beim Kochen mit der Fleischbrühe, wurden beim Kochen mit Milchsäure erzielt.

Dagegen ergaben die Versuche mit salpetriger Säure folgendes:

Versuch VI.

Es wurde zuerst Fleisch mit 20 ccm Wasser und 5 ccm einer 0,2 proc. Lösung von salpetrigsaurem Natron mit ganz wenig schwacher Salzsäure 5 Min. lang gekocht. Es ergab sich ziemlich starke Rothfärbung genau von

der Farbe des in der Fleischbrühe gekochten Fleisches. Dasselbe Resultat, nur schwächer, ergaben 4 und 2 ccm derselben Lösung. Auch eine Mischung von Schwefelsäure oder Milchsäure mit salpetrigsaurem Natron gab dem Fleisch dieselbe Färbung wie die wirksame Fleischbrühe.

Es war somit wahrscheinlich geworden, dass nicht der Säuregehalt der Fleischbrühe an sich dem in ihr gekochten Fleische die eigenthümliche Rothfärbung verliehen hatte, sondern ihr Gehalt an salpetriger Säure. Dass solche überhaupt darin vorhanden war, wurde zunächst durch die Probe mit Schwefelsäure, Jodkali und Stärke nachgewiesen; allerdings war diese Probe nicht sehr scharf, da jodbindende Substanzen in der Fleischbrühe vorhanden waren. Hierauf wurde an derselben Fleischbrühe, die schöne Rothfärbung gegeben hatte, die Acidität bestimmt und war dieselbe gleich einer $^{1}/_{20}$ Normalsäure.

Es war nun nicht zu erwarten, dass in der Fleischbrühe solche Mengen salpetriger Säure vorhanden seien, wie in den obenbeschriebenen Versuchen nöthig waren, um das Fleisch beim Kochen roth zu färben. Deshalb wurde zunächst mit der Fleischbrühe der Versuch gemacht, ob auch die Dauer des Kochens und die Menge der Fleischbrühe von Einfluss seien.

Versuch VII.

Der Versuch erstreckte sich auf Mengen der Bouillon von 20, 50, 100, 200 und 400 ccm und auf die Dauer des Kochens von 5 und 15 Min. und ergab folgendes Resultat:

Die schönste Rothfärbung wurde erreicht bei 400 ccm der Fleischbrühe und 15 Min. langem Kochen, dann erst die von 200 ccm und 5 Min. langem Kochen und die anderen in folgender Reihe:

50 ccm und 15 Min. langes Kochen,
20 » » 15 » » »
100 » » 5 » » »
50 » » 5 » » »
20 » » 5 » » »

Es ist also damit nachgewiesen, dass die Stärke der Rothfärbung beim Kochen mit Fleischbrühe begünstigt wird durch die Menge der Fleischbrühe und die Dauer des Kochens.

Zur genauen Untersuchung, ob auch kleinere Nitritmengen bei längerem Kochen dem Fleisch dieselbe Rothfärbung geben wie die bei den ersten Versuchen gebrauchten

grösseren, wurde eine 0,1% Natriumnitritlösung hergestellt (dieselbe versetzte ich auf 100 ccm mit ca. 5 ccm $^1/_{25}$ Normalschwefelsäure), ferner eine Schwefel- und Milchsäure von der vorher in einer neuen Fleischbrühprobe bestimmte Acidität, $^1/_{25}$ normal, entsprechend 4 ccm Normalsäure in 100 ccm Wasser.

Versuch VIII.

Es wurde nun Fleisch in verschiedenen Mengen der nitritfreien, sehr schwachen Säuren gekocht und es gab, zunächst bei 5 Min. langem Kochen:

10 und 20 ccm Milchsäure }
10 und 20 » Schwefelsäure } keine Rothfärbung

10 ccm Milch-, oder 10 ccm Schwefelsäure und 1 ccm Nitritlösung.
10 ccm Milchsäure und $^1/_2$ ccm Nitritlösung,
10 » » » $^1/_4$ » »

sämmtlich die schöne, charakteristische Rothfärbung, je nach der Menge der salpetrigen Säure; die Fleischstücke mit Schwefelsäure oder Milchsäure sind nicht zu unterscheiden.

Aber auch ohne nennenswerthen Säurezusatz gelang der Versuch: $^1/_4$ ccm der obigen, sehr schwach angesäuerten Nitritlösung und 15 ccm Wasser, ebenso 1 ccm Nitritlösung und 15 ccm Wasser gaben ebenfalls die charakteristische Rothfärbung; erstere schwach, letztere ziemlich stark.

Bei 15 Min. langem Kochen gaben

10 ccm Milchsäure }
10 » Schwefelsäure } keine Rothfärbung,
10 » Milchsäure mit $^1/_2$ ccm Nitritlösung,
10 » Schwefelsäure mit $^1/_2$ ccm »

geben wieder die Rothfärbung und zwar schöner als bei 5 Min. langem Kochen. Noch schönere Rothfärbung ergibt 1 ccm angesäuerte Nitritlösung und 15 ccm Wasser; auch $^1/_4$ ccm Nitritlösung und 15 ccm Wasser gaben sie eben noch, während $^1/_2$ ccm Nitritlösung und 15 ccm Wasser eine Rothfärbung ergeben, die in ihrer Intensität der durch die Fleischbrühe bewirkten am ähnlichsten ist. Bei Berechnung des Gehaltes letzterer Nitritlösung ergaben sich 18 mg N_2O_3 im Liter; ein solcher Gehalt der hiesigen Fleischbrühe an N_2O_3 ist leicht möglich, denn das hiesige Leitungswasser enthält etwa 15 mg N_2O_5 pro Liter, welche bei ihrer Reduction durch Bacterien in der Fleischbrühe 11 mg N_2O_3 bilden könnten.[1]) Es ist aber auch das beträchtliche Einkochen bei der Bouillonbereitung zu berücksichtigen und das Nitrat der grünen Suppengemüse.

Es ist also durch die vorstehenden Versuche bewiesen, dass nicht der Gehalt einer aufbewahrten Fleischbrühe an aus

1) N_2O_5 reducirende Bacterien sind bekanntlich so verbreitet, dass es unnöthig schien, diesen Vorgang bacteriologisch zu verfolgen.

Kohlehydraten entstandener Milch- oder Essigsäure die charakteristische Rothfärbung des Fleisches beim Kochen bewirkt, sondern dass diese abhängig ist von der Anwesenheit und Menge der salpetrigen Säure und von der Dauer des Kochens damit. Ferner ist dazu natürlich nöthig, dass der Blutfarbstoff des Fleisches nicht vorher durch Kochen zerstört wird, da, wie Experimente ergeben haben, sich gekochtes, graues Fleisch schon beim nachträglichen Kochen mit salpetriger Säure nicht mehr roth färbt.

Selbstverständlich mag in manchen Fällen auch die Verwendung von salpeterhaltigem Conservensalz an der Rothfärbung des Fleisches beim Kochen Schuld sein. Wie sich leicht zeigen lässt, färbt eine schwache Nitratlösung zwar Fleisch beim Kochen nicht roth, dagegen wird Fleisch sofort durch Kochen roth, wenn es zuvor mit etwas Nitratlösung einige Zeit gestanden (24 bis 48 Stunden) und dabei ein Theil des Nitrats in Nitrit verwandelt ist[1]). Einer besonderen Untersuchung soll vorbehalten bleiben, ob auch die in der Kälte eintretende Rosafärbung des gepökelten Fleisches auf Nitritwirkung zu beziehen ist.

II. Rothfärbung des Fleisches durch schwefligsaure Salze.

Die schwefligsauren Salze haben die Eigenschaft, dem rohen Fleische eine schöne, rothe Farbe zu verleihen und werden deshalb, wie es scheint, in grossem Umfang zur Conservirung benutzt. Um die Ursachen dieser Rothfärbung zu erkennen, wurden folgende Versuche angestellt:

Einigen Stücken Rindfleisch wurde schwefligsaures Natron mit und ohne Kochsalz zugesetzt. Schon nach wenigen (5) Stunden hatte das mit schwefligsaurem Natron und Kochsalz behandelte Fleisch statt der braunrothen eine dunkelzinnoberrothe Farbe, dasselbe ohne Kochsalz dieselbe Farbe, nur leuchtender angenommen; am nächsten Tage hatte es noch dieselbe Farbe, ebenso nach weiteren zwei Tagen. Doch erstreckten sich die Farbenveränderungen nur auf die Oberfläche, wie sie auch an Stellen

1) Vergl. Nothwang, Arch. f. Hyg., XVI.

nicht vorhanden waren, wo keine Luft zutreten konnte; z. B. war das Fleisch, das zwischen zwei Glasplatten lag, dort an der Oberfläche unverändert, dagegen hatte es am Rande, wo es über dieselben hinausragte, die zinnoberrothe Farbe angenommen.

Hieraus lassen sich folgende Schlüsse ziehen: Die Behandlung mit SO_2 beeinträchtigt die Reduction und eventuell weitere Zerstörung des Hämoglobins, offenbar durch Störung der Fäulnis oder anderer noch vor der Fäulnis im Fleisch ablaufender Reductionsprocesse[1]).

Es braucht zwar die schweflige Säure selbst für ihre Oxydation etwas Sauerstoff; wenn aber nur genügend Luft zutreten kann, liegen die Verhältnisse doch so, dass das vor Zerstörung geschützte Hämoglobin sich in Oxyhämoglobin umwandelt und dieses dann die schöne, hellrothe Farbe des Fleisches bedingt.

Spectroskopische Untersuchungen des intensiv rothen Fleisches ergaben stets nur Oxyhämoglobin.

Auch Wurst von verschiedenen Sorten wurde ebenso wie das Fleisch behandelt; doch war an diesen keine Farbenveränderung wahrzunehmen, wohl weil gekochtes Material Verwendung gefunden hatte.

III. Untersuchung des Würzburger Fleisches auf schwefligsaure Salze.

Veranlasst durch die in der Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 22, ververöffentlichte Arbeit von H. Kionka über die Gefährlichkeit und weite Verbreitung der Conservirung des Fleisches mit schwefligsauren Salzen, wurde hiesige Bratwurst auf folgende Weise darauf untersucht:

Die rohe Bratwurstfülle, ca. 40 g, wurde möglichst klein vertheilt und mit 150 ccm Wasser zusammen in eine Flasche gebracht, durch welche, um die Luft zu verdrängen, ein Kohlensäurestrom geleitet wurde. Hierauf wurde durch Dazugiessen

1) Damit stimmte eine von Rubner auf dem hygien. Congress in Madrid gemachte Bemerkung: »Die schweflige Säure ist ein Conservirungsmittel des Blutfarbstoffs.« Sie ist geradezu ein Conservirungsmittel für das Oxyhämoglobin.

von Phosphorsäure unter Erhitzen die schweflige Säure aus ihren Salzen frei gemacht und durch einen Kühler in eine 10proc. Jodlösung geleitet, woselbst sie sich zu Schwefelsäure oxydirte. Dann wurde das Jod durch Auskochen entfernt und die Schwefelsäure als Bariumsulfat gewogen. Um mich zu üben, hatte ich den Versuch vorher verschiedene Male gemacht, dabei auch zweimal bekannte Mengen schwefliger Säure richtig bestimmt, so dass an der Richtigkeit der folgenden Untersuchungen kein Zweifel sein kann.

Es waren sechs Proben der Bratwurstfülle von sechs verschiedenen Metzgern untersucht worden; bei fünf derselben wurde schweflige Säure darin gefunden und zwar in folgender Menge:

Metzger	A.	in	1 kg	0,088 g	SO_2,
»	B.	»	»	0,025 g	»
»	C.	»	»	0,040 g	»
»	D.	»	»	0,025 g	»
»	E.	»	»	0,018 g	»

Die Frage, ob solche Mengen schwefliger Säure im Fleisch schädlich wirken können, darf wohl verneint werden.

Eine andere Frage ist es allerdings, ob diese Conservirungsmethode überhaupt zu gestatten sei. Denn wie leicht könnte es vorkommen, dass ein Metzger, um sein Fleisch länger als gewöhnlich zu conserviren, auch eine entsprechend grössere Dosis des Salzes nehmen würde, was dann unter Umständen zu schweren Vergiftungserscheinungen führen könnte. Das Beste wäre daher wohl, wenn man überall, dem Beispiel der kgl. sächsischen Regierung folgend, die Conservirung mit schwefliger Säure gänzlich verbieten würde.

Zum Schlusse erübrigt mir noch die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. K. B. Lehmann für die gütige Ueberlassung der Arbeit und die fortwährende freundliche Mithilfe bei derselben meinen besten Dank auszusprechen.

Zur Kenntnis der Abwässer von Zuckerfabriken.

Von

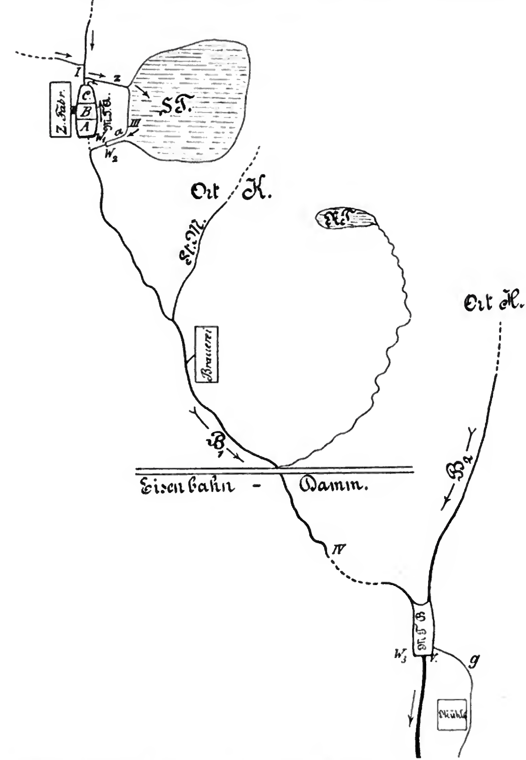
Ferdinand Hueppe.

Die Abwässer von Zuckerfabriken gehören bekanntlich zu den unangenehmsten Abwässern, die wir überhaupt kennen. In Böhmen ist dies in um so höherem Maasse der Fall, als das Land wasserarm ist und die kleineren Nebenflüsse und Bäche sehr wenig Wasser führen. Die Verunreinigung dieser kleinen Wasserläufe erreicht deshalb ganz ungewöhnlich hohe Grade, die vielfach zu den schwersten gesundheitlichen Missständen führen.

In der Litteratur sind leider, trotz der vielen Untersuchungen, nur wenige vom hygienischen Standpunkte verwerthbare Angaben vorhanden. Aus diesem Grunde möchte ich über eine derartige Untersuchung berichten, die manches Interessante geboten hat.

Die Situation war kurz folgende. Ein aus der Vereinigung des Ablaufes zweier Teiche gebildeter kleiner Bach B_1 fliesst dem Orte K zu. Oberhalb dieses Ortes liegt die Zuckerfabrik Z. Bei dieser war ursprünglich eine kleine Erweiterung des Baches als Mühlteich $MT.A$ angelegt. Vor dem Eintritte in diese teichartige Erweiterung geht ein Seitenzweig z, ab, welcher den in der Nähe liegenden grossen, aber flachen Schlossteich ST speist. Das Abwasser dieses Schlossteiches, a, fällt unterhalb über ein Wehr w_2 und vereinigte sich an dieser Stelle ursprünglich mit

dem über das Wehr w_1 abfallenden Bachwasser des Mühlteiches A. Von hier aus läuft der Bach durch den Ort K und dann in



vielfach geschlängeltem Laufe durch Wiesen bis zu einer vom Teiche A etwa 2 km entfernten Mühle. Vor dieser Mühle ist durch eine Erweiterung und ein eingebautes Wehr w_3 ein zweiter

Mühlteich *MT.B* gebildet. In diesen Mühlteich *B* fliesst zu dem Wasser des Baches B_1, vom Orte *K* noch das Wasser B_2, eines annähernd gleich grossen Baches vom benachbarten, etwa 2 km entfernten Dorfe *H.* Von diesem Teiche führt ein Mühlgraben *g* das Wasser der Mühle zu.

Innerhalb des Ortes *K* ist noch als Ablauf eines Teiches ein kleiner Mühlbach *StM*, welcher auch Schmutzwässer von einzelnen Gehöften aufnimmt und so stark ist, dass er ungefähr ein Drittel des Gesammtwassers des Baches B_1 unterhalb des Ortes *K* ausmacht. Dann folgt eine kleine Bierbrauerei, deren Abwässer gleichfalls in den Bach einmünden.

Die meisten oberirdischen Abwässer des Dorfes *K* gelangen in einen zweiten Teich *NT*, dessen Abwässer erst nach längerem Laufe über die Wiesen unterhalb der Brauerei in den Bach B_1 einmünden. Die Wassermenge des Baches B_1 oberhalb des Ortes ist so gering, dass in der Regel das Wasser ganz zum Speisen des Schlossteiches verwerthet werden muss. Infolgedessen war es möglich, dass die Zuckerfabrik ihre Kläranlage an der Stelle des ursprünglichen Mühlteiches *A* anlegen konnte. Alles Wasser des Baches B_1 passirt deshalb jetzt den Schlossteich.

Ich habe die Verhältnisse zweimal im Auftrage der Regierung untersucht und zwar das erstemal zur Zeit der »Campagne« und das zweitemal, um Controllmaterial zu bekommen, im Hochsommer. Die letztere Untersuchung will ich vorwegnehmen, weil sie über die Verhältnisse Aufschluss gibt, wenn die Zuckerfabrik nicht arbeitet.

Allerdings waren damals die Verhältnisse absichtlich etwas abnorm gemacht zu Gunsten der Zuckerfabrik, insofern das Bachbett B_1 von der Zuckerfabrik bis zur Einmündung von *StM* gereinigt, unterhalb aber in dem ursprünglichen schlechten Zustande belassen worden war. Die Untersuchung im Sommer bei einer Lufttemperatur von 17^0 und bei einer Wassertemperatur von 14,8^0 fand während einer Regenperiode statt und auch am Tage der Besichtigung regnete es. Sämmtliche Bäche der Gegend waren durch Lehmbestandtheile röthlich getrübt.

Als Entnahmestellen wurden gewählt:

I. Stelle des Baches oberhalb der Zuckerfabrik;

II. bezeichnet die Entnahme in der Kläranlage;

III. Ueberfall vom Schlossteiche, der den Reinigungsgrad des Wassers durch diesen Teich anzeigt;

IV. unterhalb der Bierbrauerei an einer Stelle, an der die Abwässer der Bierbrauerei und des Dorfes bereits eingemündet sind;

V. ist die Entnahmestelle am Wehr der unterhalb gelegenen Mühle.

Die chemische Zusammensetzung des Wassers ergibt sich aus der Tabelle I auf S. 23.

Bacteriologisch ergab sich

bei	I	73,880	Colonien	und 4	Arten
»	III	28,080	»	» 2	»
»	IV	167,363	»	» 5	»
»	V	116,670	»	» 6	»

Auf die mikroskopischen Ergebnisse gehe ich später im Zusammenhange ein.

Vor Besprechung dieser Zahlen muss ich noch einige Bemerkungen über die Analyse vorausschicken.

Die Wässer waren alle trüb und zur Reaction mit dem Nessler'schen Reagenz nicht genügend farblos. Um sämmtliche für die Untersuchung wichtigen Stickstoffzahlen zu erhalten, wurde deshalb in folgender Weise vorgegangen. Zuerst wurde eine bestimmte Menge von sedimentfreiem Wasser in einem ammoniakfreien Raume mit Natronlauge versetzt bis zur deutlichen alkalischen Reaction. Ein Ueberschuss an Alkali muss jedoch vermieden werden, um nicht organische Stickstoffverbindungen zu zersetzen, und das so aufgeschlossene Ammoniak nicht als anorganischen Stickstoff mitzurechnen. Aus der Lösung wurde ein Theil abdestillirt und mit Schwefelsäure aufgefangen. Auf diese Weise wurde der anorganische Stickstoff der Ammoniumverbindungen bestimmt. Ein Theil des Wassers wurde zur Bindung des Ammoniaks mit Schwefelsäure versetzt und auf ein kleineres Volumen eingedampft, dann quantitativ in den

Tabelle I.

Entnahmestelle	Sediment in 1 l	Im sedimentfreien Wasser mg in 1 l						Härte in deutschen Härtegraden	Stickstoff mg auf 1 l					Anmerkung	Keimgehalt	
		Abdampfrückstand	Kalk CaO	Magnesia MgO	Schwefelsäure SO_3	Chlor Cl	Sauerstoffverbrauch		Ammoniumsalze als NH_3	Gesammtstickstoff im sedimentfreien Wasser	Organischer Stickstoff im sedimentfreien Wasser	Gesammtstickstoff incl. Sediment	Organischer Stickstoff des Sediments		Zahl pro 1 ccm	Arten
I	42	374	105	33,5	30,5	23,2	11	15,2	0,85	2,1	1,4	4,2	2,1	Neutrale Reaction. Freie CO_2. Beim Abdampfen Abscheidung organ. Verbindungen.	73 880	4
III	0	163	33	16	14	12	8,89	5,5	0,445	2,8	2,45	2,8	0	Neutrale Reaction. Freie CO_2.	28 080	2
IV	70,8	365	107,2	25	45,5	23,2	10,7	14,2	3,4	5,6	2,8	7	1,4	Schwach sauere React. Schwefelwasserstoff! Im Sedimente FeS. Beim Abdampfen Abscheidung organischer Verbindungen.	167 363	5
V	94,4	485	116	39	39,4	27,2	10,9	17	1,6	2,1	1,5	4.9	2,7	Neutrale Reaction. Freie CO_2. Beim Abdampfen Abscheidung organ. Verbindungen.	116 670	6

Kjeldahl'schen Kolben gebracht, das überschüssige Wasser verdampft und dann mit einigen Cubikcentimetern concentrirter Schwefelsäure eine Stunde erhitzt. In dieser Zeit werden sämmtliche organische Verbindungen zerstört und die Lösung erscheint fast farblos. Wenn dieses nicht der Fall war, genügten einige Körnchen Kaliumpermanganat zur Entfärbung. Auf diese Weise bekommt man den Gesammt-Stickstoff. In dieser Weise wurde sowohl mit den sedimenthaltigen wie sedimentfreien Wässern verfahren. Wie stark man die Normalschwefelsäure zum Titriren zu nehmen hat, muss man durch einen Vorversuch feststellen. Im vorliegenden Falle wurde zwischen $^1/_2$ und $^1/_8$ Normalschwefelsäure variirt. Die Wässer enthielten keine salpetrige Säure und so geringe Spuren von Salpetersäure, dass sie vernachlässigt werden konnten. Bei der später zu erwähnenden Untersuchung während der Campagne wurde die Salpetersäure ausserdem quantitativ bestimmt.

In chemischer Beziehung ergibt sich, dass das trübe Wasser durch den Schlossteich, der als Klärbecken wirkt und in dem zugleich eine Verdünnung mit dem angesammelten chemisch reineren Wasser der vorausgegangenen Trockenperiode stattfand, eine bedeutende Reinigung erfährt, die sich in dem vollständigen Freiwerden von Sedimenten, in der Abnahme der gelösten Bestandtheile und in einer Herabsetzung der Keimzahl von 73 880 auf 28 080 ausspricht. Unterhalb, bei IV, wird das Wasser wieder unrein durch Einmündung der Abwässer der Bierbrauerei und des Dorfes. Aber ein Vergleich von I und IV zeigt auch, dass trotz der Bierbrauerei und der Schmutzwässer des Dorfes, die durch den Regen in die Bäche hineingespült wurden, der Gehalt an gelösten und suspendirten Stoffen unterhalb des Dorfes annähernd so gross ist wie der des »reinen« Wassers oberhalb des Ortes *K*. Der Keimgehalt ist bei IV allerdings grösser 167 363 (IV) gegen 73 880 (I). Daraus ergibt sich wohl unzweideutig, dass der Hauptgrund für die Verunreinigung des Baches B_1 innerhalb des Ortes *K* in denselben Verhältnissen zu suchen ist wie die Verunreinigung des Baches vor dem Orte: nämlich in dem Abschwemmen der oberirdischen Verunreinigungen durch den Regen.

Ein besonders hoher Grad der Verunreinigung, der auf die Bierbrauerei hätte zurückgeführt werden müssen, liess sich gegenüber diesem allgemein in Betracht kommenden übergeordneten Momente damals nicht nachweisen. Dass die letztere Deutung die richtige ist, ergibt sich auch aus dem Verhalten von V im Vergleiche zu IV. Es zeigt sich bei diesem Vergleiche in Bezug auf die gelösten Bestandtheile theils eine geringe Abnahme, theils eine geringe Zunahme der gelösten Bestandtheile, aber eine etwas stärkere Zunahme der Sedimente. Bei V hatte aber vor allem die Vermischung mit dem Bache vom Orte *H* stattgefunden, der verhältnismässig wenig gelöste Stoffe führte, aber infolge des Regens stark getrübt war. Diese Vermischung mit dem Bache B_2 ist auch aus der Herabsetzung der Keimzahl von 167363 (IV) auf 116670 (V) ersichtlich. Bei Nichtvorhandensein der Abwässer der Zuckerfabrik erhält nach diesen Ermittlungen die Mühle, trotz der Bierbrauerei und des Ortes *K* selbst unter den ausserordentlich ungünstigen Verhältnissen einer Regenperiode das Wasser (V) fast so rein, wie es dem Orte *K* vor der Zuckerfabrik (I) zufliesst.

Der etwas höhere Kalkgehalt erklärt sich in einfacher Weise. In Folge der Klärung der Zuckerabwässer mit Kalkmilch hatte sich früher im Bachbette viel kohlensaurer Kalk abgeschieden, der allmählich in Lösung gelangt. Von der Zuckerfabrik war eine theilweise Reinigung des Bachbettes bis zur Einmündung von *St M* vorgenommen worden, um den Anschein zu erwecken, als sei die Zuckerfabrik ein unschuldiges Lamm und habe gar nichts mit der Verschlechterung des Baches zu thun. Der schmutzige Zustand unterhalb sollte den Eindruck machen, als ob das Dorf und die Bierbrauerei allein die Verschmutzung bewirkt hätten. Der Kalkgehalt zeigt nun unter gleichzeitiger Berücksichtigung der anderen gelösten Stoffe unzweideutig, dass die alten Sünden der Zuckerfabrik auf Jahre nachwirken und besonders auch auf recht weite Strecken.

Wesentlich abweichend von diesem Verhalten ist das zur Zeit der Campagne. Der Tag der Besichtigung war ein klarer Wintertag, an dem die Teiche und ruhigen Stellen der Bäche

mit Eis bedeckt waren, welches vielfach bereits Kinder trug. Gegen Mittag stieg die Lufttemperatur in der Sonne auf 0°. Schon in einiger Entfernung vom Bache machte sich ein intensiv übler Geruch bemerkbar, aus dem sich der charakteristische Geruch von Schwefelwasserstoff abhob.

Wie schon bemerkt, liegt die Fabrik oberhalb des Ortes, und die Kläranlage der Fabrik ist dort angelegt, wo ursprünglich der Mühlteich *MT. A* war, weil dieser Abschnitt des Baches dadurch überflüssig geworden war, dass alles Wasser durch den Schlossteich abfloss.

Die Kläranlage besteht aus drei Becken. Das erste *A* ist vom zweiten *B* durch eine unten offene Schleuse geschieden, so dass das Wasser im ersten Abschnitte *A* oben eintritt, durch die Schleuse gezwungen nach unten strömt, dann im zweiten Abschnitte *B* wieder aufsteigt und nunmehr in das dritte Becken *C* überfällt. Es wird also eine unvollkommene, auf- und absteigende Filtration mit der Sedimentirung verbunden. Das durch die Kläranlage gegangene, angeblich gereinigte Wasser, tritt gemeinsam mit dem Bachwasser *z* in den Schlossteich ein, mit dessen relativ reinem Wasser es sich mischt.

Die Zuckerfabrik entnimmt ihr reines Wasser für den Betrieb oberhalb der Kläranlage bei I, oberhalb der Abgangsstelle des Baches *Z* in den Schlossteich. Das Condenswasser der Fabrik tritt in die zweite Abtheilung *B* der Kläranlage ein. Die Wassermenge, welche der Fabrik zu Gebote steht, ist so gering, dass das Wasser aus dem Schlossteiche *ST* bei III kurz vor seinem Ablaufe aus diesem Teiche zu Reinigungszwecken, wie Rübenwäsche, wieder verwerthet werden muss, trotzdem es, wie nachher gezeigt werden wird, noch keine genügende Reinigung durchgemacht hat.

Die Klärbecken rochen ganz abscheulich, besonders nach Schwefelwasserstoff. Ich spreche übrigens nur dann von Schwefelwasserstoff, wenn derselbe auch chemisch, durch Bleiacetat oder alkalisches Bleioxydnatrium nachgewiesen wurde. Das Wasser war von schmutziggrauer Farbe, trübe und mit einer schaumigen, grauweissen Schicht bedeckt, welche gegen das

Ende der Kläranlagen etwas geringer war. Das Wasser des Schlossteiches *ST* war trübe, von graugrüner Farbe, ohne Schaum und roch nicht nach Schwefelwasserstoff, sondern hatte nur den eigenthümlichen Geruch der Rübenwässer. Beim Ueberfalle aus dem Schlossteiche, w_2, wo das Wasser etwas zerstäubt wurde, war jedoch deutlicher und zwar starker Geruch nach Schwefelwasserstoff zu bemerken.

Das Bachbett liess damals von der Zuckerfabrik ab bis zur unteren Mühle einen üblen Geruch wahrnehmen, der erst in dem unteren Mühlteiche *MT. B* geringer war. — Die vorher von mir erwähnte Reinigung des Bachbettes von der Zuckerfabrik bis zur Bierbrauerei war auf Grund meiner Ermittelungen später vorgenommen worden, als würdige Vorbereitung für spätere Besichtigungen. — Aber am Ueberfallwehr w_3 des unteren Mühlteiches *B*, wo das Wasser zerstäubt wurde, war wieder deutlicher Geruch nach Schwefelwasserstoff wahrzunehmen.

Das Bachbett war mit einer schwärzlichen, an manchen Stellen intensiv schwarzen Schlammschicht bedeckt. Am Ufer und auf den Steinen flottirten braune und graue Algenmassen, darunter Sphaerotilus natans und Leptomitus lacteus. Manche Steine und manche Stellen des Bachgrundes waren mit feinen, weissen Ueberzügen von Beggiatoa alba versehen.

Der Schlossteich, manche ruhigeren Stellen des Baches und der untere Mühlteich zeigten stärkere Entwicklungen der Wasserlinsen, die zum Theil im Eise eingeschlossen waren. Wie oben bemerkt, waren nämlich die Bäche und Teiche, auch der untere Mühlteich *B*, an ruhigen Stellen mit Eis bedeckt, die Kläranlage und ein Streifen im Schlossteiche, der der Kläranlage zugekehrt war, waren eisfrei.

Die Abwässer von Zuckerfabriken enthalten reichliche Mengen zersetzungsfähiger, stickstoffhaltiger und stickstofffreier, organischer Stoffe, die ich im Einzelnen hier nicht anzuführen brauche. Zu bemerken wäre nur, dass die Abwässer reichlich Alkalien, aber auch Pflanzensäuren führen. Aus beiden Gruppen bilden sich etwa nicht nur normale, neutrale, sondern auch sauere pflanzensauere Alkalisalze. Zum Verständnisse will

ich nur anführen, dass z. B. die Bindung von Essigsäure durch essigsaures Kalium sauer reagirende Salze liefert: $CH_3 \cdot COOK + 1\,CH_3 \cdot COOH$ (saures Salz) oder $CH_3 \cdot COOK + 2\,CH_3 \cdot COOH$ (übersaures Salz). Das sogenannte bittere Kleesalz ist ein Gemenge von saurem ($COOH \cdot COOK$) und übersaurem ($COOH \cdot COOK + COOH \cdot COOH$) oxalsauren Kalium.

Derartige, ich möchte fast sagen, selbstverständliche Dinge werden aber, wie ich aus anderen gutachtlichen Aeusserungen ersehen habe, noch nicht genügend beachtet, wenn man die Klärung mit Kalk, die im vorliegenden Falle in Betracht kam, zu beurtheilen hat. Es hängt selbstverständlich derartig zusammengesetzten Massen gegenüber vor allem von der Menge des Kalkzusatzes ab, ob solche Abwässer sauer, neutral oder alkalisch reagiren können.

Die Abwässer der Kläranlage reagirten schwach sauer, trotz der Anwendung von Kalk, zu einer anderen Zeit einmal neutral. Die alkalische Reaction, welche einen richtigen Zusatz von Kalkmilch angegeben hätte, ist niemals gefunden worden. Wie man sich die Desinfection mit Kalkmilch — denn eine solche war vorgeschrieben worden — gelegentlich vorstellt, ergibt sich daraus, dass z. B. alte Kalkreste, welche nur noch kohlensauren Kalk enthalten konnten, ungenügend zerkleinert in die Kläranlage eingebracht wurden. Das Wasser des Schlossteiches reagirte neutral, das Wasser bei IV wieder schwach sauer und im unteren Mühlteiche *B* wieder neutral.

Ueber die chemische Ermittlung orientirt Tab. II auf S. 29.

Aus diesen Ermittlungen ergibt sich zunächst, dass die Abwässer der Zuckerfabrik die Kläranlage in ausserordentlich wenig gereinigtem Zustande verlassen. Zunächst war kohlensaurer Kalk als Klärmittel in ganz ungenügender Weise vorhanden. Der Kalk hatte aber auch in Form von Kalkmilch als Desinfectionsmittel ebenso ungenügend eingewirkt, wie sich aus dem Gehalte des ablaufenden Wassers an 160500 Keimen ergibt. Da der Anfangsgehalt gegen 2 Millionen betrug, ist allerdings eine mässige Desinfectionswirkung vorhanden. Wie

Tabelle II.

Entnahmestelle	Sediment in 1 l	Im sedimentfreien Wasser waren mg in 1 l							Härte in deutschen Graden	Stickstoff mg in 1 l						Anmerkung	Keimgehalt	
		Abdampfrückstand	Eisen Fe_2O_3	Kalk CaO	Magnesia MgO	Schwefelsäure SO_3	Chlor Cl	Sauerstoffverbrauch aus $KMnO_4$		Salpetersäure N_2O_5	Ammoniumsalze als NH_3	Gesammtstickstoff im sedimentfreien Wasser	Organischer Stickstoff im sedimentfreien Wasser	Gesammtstickstoff incl. Sediment	Organischer Stickstoff im Sediment		Zahl pro 1 ccm	Arten
I	0	135,5	0	33,2	14,15	29,92	10	7,2	5,3	0,5	0	0	0	0	0	Neutrale Reaction. Freie CO_2. Spuren von Eisen im Kalk mitbestimmt.	615	4
II	89,6	515	16,1	76,7	16,92	10,22	10	28,7	10,04	0,5	8,5	14	7	28	14	Schwach sauere React. CO_2, H_2S. Beim Abdampfen Abscheidung organ. Verbindungen.	160500	5
III	64,8	416	50,8	33,8	16,20	13,09	10,22	23,55	5,65	0,32	5	11,2	7	19,6	8,4	Neutrale Reaction. CO_2, H_2S.	185700	5
IV	161,6	619	11,9	143	25,35	15,3	20	22	17,85	0,24	6,375	14	8,75	21	7	Schwach sauere React. CO_2, H_2S. Sediment stark FeS-haltig.	222680	5
V	57,6	742	49,6	104	27,27	24,82	20	19	14,22	0,36	5,95	7	2,1	14	7	Neutrale Reaction. CO_2, H_2S. Sediment stark FeS-haltig.	132080	6

ungenügend aber diese Vorkehrungen sind, zeigt sich darin, dass in dem grossen Schlossteiche nur eine ganz geringfügige Reinigung erfolgt, die sich vorwiegend als eine Abscheidung von Kalk und Herabsetzung der Härte zu erkennen gibt. Die anderen Stoffe sind nur ganz geringfügig betroffen, zeigen sogar, wie Eisen, wohl in Folge der biologischen Umsetzungen zum Theil eine Vermehrung. Unter dem Einflusse der Abscheidung des kohlensauren Kalkes im Schlossteiche wird die bacteriologische Zersetzung in demselben verstärkt, und es tritt sogar eine Zunahme der Keimzahl von 160500 (II) auf 185700 (III) ein.

Während der Schlossteich *ST* ohne Einfluss der Zuckerfabrik, wie aus der erst mitgetheilten Untersuchung hervorgeht, als Sedimentir- und Klärbecken gut functionirt, leistet er wohl als Folge der Kalklösung den Abwässern der Zuckerfabrik gegenüber fast nichts, und dieses schmutzige Wasser muss in der Fabrik sogar wieder zu Reinigungsarbeiten verwerthet werden!

In Folge der Kohlensäurebildung bei den biologischen Processen konnte sich wieder ein Theil des niedergeschlagenen Calciumcarbonates zu doppeltkohlensaurem Kalke lösen, und es tritt weiter unterhalb des Ortes *K* bei IV wieder eine Zunahme der Erdalkalien und damit der Härte des Bachwassers ein, während in dem unteren Mühlteiche *MT.B* in Folge der Mischung mit dem reineren Wasser vom Orte *H* eine Verminderung (bei V) sich einstellt.

Die Analyse von IV unterhalb des Ortes ergibt, dass bei IV wieder eine geringe Zunahme der »Stadtlaugenstoffe«, besonders von Chlor, vorhanden ist und dieses beweist, dass an der Verschlechterung des Baches unterhalb des Ortes die Abwässer des Dorfes und vielleicht auch der Brauerei einen kleinen Theil der Schuld tragen. Aber ein Vergleich der Analysen II, III und IV zeigt auch, dass dieses Mehr gegenüber dem Gesammteinflusse der Zuckerfabrik untergeordnet ist, so dass die Verschlechterung des Bachwassers fast ausschliesslich Schuld der Zuckerfabrik ist. Auch die Mischung des Abwassers mit dem relativ reinen Wasser des Baches B_2 von *H* vermag die schlechte Beschaffenheit im Mühlteiche *B* nur wenig zu verbessern.

Auch bacteriologisch ist unzweifelhaft bei IV eine Vermehrung der Keimzahl von 185700 (III) auf 222680 (IV) vorhanden und auch dieses spricht für den eben erwähnten Zusammenhang.

In einer anderen Analyse, die nicht von mir ausgeführt worden war, war das Wasser unterhalb der Bierbrauerei und der Einmündung des Dorfabwassers sogar besser als oberhalb. Doch möchte ich darauf weiter keinen Werth legen, als insofern dies zeigt, dass gegenüber der Zuckerfabrik thatsächlich die anderen Einflüsse stark zurücktreten. Dieses kommt umsomehr in Betracht, als bei dieser späteren Analyse das Bachbett oberhalb bereits gereinigt war.

Bei Verwendung sauerer Gelatine, bei der die absoluten Zahlen geringer sind und nicht so vergleichbar erscheinen, zeigte sich besonders, dass die Zahl der Hefenkeime bereits in der Kläranlage sehr gross war und nicht erst aus der Brauerei stammte.

Im Mühlteich trat dann wieder in Folge der Mischung mit dem reineren Wasser von *H* eine Herabsetzung der Keimzahl von 222680 auf 132080 ein.

Der starke Verbrauch von Kaliumpermanganat, bezüglich von Sauerstoff lässt ohne weiteres erkennen, dass ein solches, noch dazu kohlensäurereiches und schwefelwasserstoffhaltiges Wasser zur Fischzucht ganz ungeeignet ist und dieser Nebenerwerb des Müllers unterhalb war thatsächlich seit der Einrichtung der Zuckerfabrik eingegangen.

Ein anderer Nebenerwerb des Müllers hatte in der Gewinnung von Eis auf dem Mühlteiche *B* bestanden. Eine Probe relativ reines Eis ergab nun im Durchschnitte 92729 Colonien pro 1 ccm des aus dem Eise gewonnenen Wassers mit vier Arten. Ein solches Eis ist nach seiner Beschaffenheit und Herkunft nicht geeignet zum menschlichen Genusse, so dass auch die Eisgewinnung eingestellt werden musste.

Durch den Einfluss der Zuckerfabrik war der Betrieb der Mühle 2 km unterhalb der Zuckerfabrik unmöglich geworden. Der Grund liegt in der besonderen Richtung der Zersetzungen

in den Abwässern. Die gewöhnliche bacteriologische Untersuchung klärt darüber nicht auf. Die Culturen ergaben pro 1 ccm:

I	615	Keime,	4	Arten,
II	160500	»	5	»
III	185700	»	5	»
IV	222680	»	6	»
V	132080	»	6	»
das Eis von V	92729	»	4	»

Die Arten waren gewöhnliche, in Wasser und Boden vorkommende Saprophyten, wie sie sich an der Zersetzung organischer Substanzen betheiligen.

Aus dieser Art der Zersetzung erklären sich die Verhältnisse nicht, und man muss unbedingt eine genaue mikroskopische Analyse vornehmen, sowohl frisch, als auch nachdem man das Wasser sich selbst überlassen hat und nachdem auf diese Weise eine spontane Entwicklung solcher Keime eingetreten ist, die sich der unmittelbaren Cultur und Beobachtung entziehen.

I. Das Wasser war klar, ohne Geruch, ohne Trübung, nach längerem Stehen bildete sich keine Haut, sondern nur feine bräunliche Flöckchen am Boden, welche Cladothrix- und Crenothrixfäden enthalten.

II. Das Wasser war stark graugelblich getrübt, mit vielen Flöckchen durchsetzt. Beim Stehen bildet sich ein stark irisirendes Häutchen und ein starker grünbrauner Bodensatz. Ausser Coccen, Stäbchen und Schraubenformen (unter den letzten Spirillum serpens) finden sich Beggiatoa alba, Cladothrix dichotoma, Leptothrix ochracea, Leukonostoc, ferner Nostoc, Oscilaria, Ulothrix und einige nicht genau bestimmbare Formen, wenige Monaden und Infusorien, darunter Stephanosphaera.

III. Das Wasser zeigt dasselbe Verhalten wie II, nur in einem etwas geringeren Grade. Neben Spirillum serpens auch Spirillum undula; keine Stephanosphaera vorhanden.

IV. Das Wasser ist stark getrübt mit grauen und schwärzlichen Flöckchen. Beim Stehen bildet sich eine starke graugrünliche irisirende Haut und ein starker, zum Theil schwärzlicher Bodensatz. Es wurden dieselben Formen wie oben II und III gefunden. Ausserdem aber viele Crenothrix polyspora und Leptothrix ochracea, viele Amöben, Infusorien, darunter Hydra viridis, Paramecium, Volvox.

V. Ein ganz ähnliches Verhalten wie bei IV, nur etwas schwächer.

Zum weiteren Verständnisse untersuchte ich noch Schlammproben und hierbei ergab sich, dass schon schwache Pflanzensäuren im Stande waren, Schwefelwasserstoff zu entwickeln. Der Schlamm enthielt reichlich Schwefeleisen. Ausserdem findet sich Eisen vor in den tieferen Schichten gelöst als Ferrobikarbonat und oberhalb der schwarzen Schichten an Rändern und Steinen auch Niederschläge von Ferrihydroxyd in Flöckchen, zum Theil frei, zum Theil eingelagert in den Scheiden und den organischen Massen der niederen Spaltpflanzen und Spaltalgen. Die schwarze Schicht zeigt dem Auge sofort die Grenze der rein anaëroben Zersetzungen.

Wie schon früher erwähnt, fand ich an Steinen flottirend oder als Ueberzug Sphaerotilus natans und Leptomitus lacteus und vielfach auch grössere zusammenhängende Ueberzüge von Beggiatoa alba.

Im Zusammenhange mit dem, was über die Lebensthätigkeit dieser verschiedenen Mikrobien ermittelt ist, gewinnt man jetzt nachstehendes Bild von den Zersetzungen, die im Wasser vor sich gehen. Die mikroskopisch und culturell nachgewiesenen Arten der Gruppen Crenothrix, Cladothrix, Leptothrix und Lyngbyia concentriren das in dem Wasser in geringen Mengen nachgewiesene Eisen, welches dann secundären, vielleicht rein chemischen Umsetzungen zugänglich ist. Die ganz ungleiche Art dieser Vegetation, welche noch durch theilweises Fliessen des Wassers im Bache und theilweise Stagnation begünstigt

wurde, erklärt zunächst das dem Chemiker ganz unverständliche Verhalten, dass der Gehalt an gelöstem Eisen in den einzelnen Abschnitten des Baches ganz bedeutenden Schwankungen unterworfen sein kann, dass er besonders in den stagnirenden Abschnitten III (Schlossteich), V (Mühlteich *B*), wo diese Eisenanhäufungen und Umsetzungen in intensiverer Weise vor sich gehen, grösser ist als im fliessenden Bach selbst (IV). Zu verschiedenen Zeiten dürften darin grosse Unterschiede zu erwarten sein.

Die organischen Massen, welche von der Zuckerfabrik geliefert werden, werden besonders durch Bacterien, wie sich aus deren Zunahme unzweideutig ergibt, gespalten und in niedrigere Verbindungen übergeführt. Diese in Lösung befindlichen niedrigen organischen Verbindungen werden aber nicht nur von chlorophyllfreien Mikrobien verwerthet, sondern sie dienen bei der stärkeren Verdünnung, in der sie vorhanden sind, auch Algen zur Nahrung, die sich deshalb in einem solchen Schmutzwasser in grosser Menge entwickeln. Daraus erklärt sich der starke Gehalt des Wassers an Sphaerotilus natans und Leptomitus lacteus. Die grosse Zahl der fäulnisliebenden niederen Thiere in dem Wasser bedarf wohl keiner besonderen Erklärung.

Durch die bacterielle Zersetzung der stickstoffhaltigen Substanz wird schliesslich Ammoniak gebildet, während der Schwefel als Schwefelwasserstoff abgespalten wird. Diese beiden Körper können sich dann zu Ammoniumsulfid verbinden. Andererseits kann der Schwefelwasserstoff mit den Eisenverbindungen eine Vereinigung zu Schwefeleisen eingehen. Der abgespaltene Schwefelwasserstoff oder der durch die Pflanzensäuren aus dem Schwefeleisen wieder in Freiheit gesetzte Schwefelwasserstoff dient anderen Mikroorganismen, unter denen speciell nachgewiesen wurden unter den Spaltalgen Ulothrix, unter den höheren Bacterienformen in grösserer Masse Beggiatoa alba und Spirillenformen, zur Nahrung und zwar wahrscheinlich zur Unterhaltung der Athmung derselben unter Verhältnissen, wo absorbirter Luftsauerstoff nicht zu Gebote steht. Der Schwefelwasserstoff wird nämlich in diesen Organismen durch das Protoplasma

derselben zu Schwefel in Körnern und dieser weiter zu Schwefelsäure oxydirt. Unter der schwarzen Schicht von Schwefeleisen beobachtete ich nur an wenigen Stellen eine feine weisse Schicht von Schwefel. Aus dieser Oxydation dürfte es sich erklären, dass unter Verhältnissen, unter denen absorbirter Sauerstoff vollständig ausgeschlossen ist, nicht nur chlorophyllfreie Pflanzen, wie Beggiatoa, sondern selbst chlorophyllhaltige, wie Ulothrix, dann leben können, wenn die Wasserschicht so dünn ist, dass das Licht noch eindringen kann. Eine derartige biologische Bildung von Schwefelsäure kann in Wässern stattfinden, in denen chemisch eine Oxydation ausgeschlossen scheint, und dieses dürfte wohl erklären, weshalb in dem schmutzigsten Abschnitte trotz der intensiven Reductionen von IV bis V der Gehalt an gelösten Sulfaten zugenommen hatte von 15,3 (IV) auf 24,82 (V). Der geringe Gehalt an Salpetersäure und die Abnahme der Nitrate illustrirt neben dem Sauerstoffverbrauch und dem Auftreten von Schwefelwasserstoff die Intensität der Reductionen. Die Anwesenheit von Wasserstoff und Methan wurde nicht direct ermittelt.

Es ist selbstverständlich, dass die durch die Lebensthätigkeit gebildeten chemischen Körper, Säuren und Alkalien, oxydirende oder reducirende Körper, ausserhalb der sie bildenden Pflanzen im Wasser mit dessen gelösten Bestandtheilen in Wechselwirkung treten und so neben den biologischen Umsetzungen auch secundäre chemische Umlagerungen bewirken. Gegenüber den biologischen Processen treten dieselben jedoch in den Hintergrund, und dies muss man berücksichtigen, wenn man die quantitativen Verhältnisse der chemisch nachweisbaren Körper in solchen Wässern richtig beurtheilen will.

Meines Wissens ist bis jetzt eine derartige Untersuchung, bei der die bacteriologische, mikroskopische und chemische Untersuchung in einer Hand lag und ganz einheitlich durchgeführt wurde, in der Literatur nicht vorhanden, während wir eine Reihe blos chemischer Untersuchungen und besonders von F. Cohn eine ausgedehnte Untersuchungsreihe über die mikroskopische Beschaffenheit von Abwässern von Zuckerfabriken

besitzen, die aber auf die Verhältnisse der anderen Untersuchungen keine Rücksicht nehmen.

Im vorliegenden Falle war zu den früher geschilderten Schädigungen noch Folgendes hinzugekommen. Es war mir angegeben worden, dass unter den Enten und Gänsen, die im Wasser gehalten wurden, öfter Seuchen mit starker Mortalität beobachtet wurden. Es lag nahe, an Erkrankungen vom Charakter der Hühnercholera zu denken. Die von mir angestellten Thierversuche ergaben damals ein rein negatives Resultat.

Hygienisch ist Folgendes noch sehr interessant, weil darüber in der Literatur keine positive Angabe vorliegt.

Es wird vielfach ein Fall aus zweiter Hand citirt[1]), in dem angeblich in einer Mühle durch den Geruch von Schwefelwasserstoff der Betrieb unmöglich geworden sein soll. Angeblich war das Mühlrad mit fein vertheiltem Schwefel bedeckt, Metallgegenstände wurden geschwärzt und selbst Erkrankungen durch H_2S beobachtet, und das Mehl soll penetranten Geruch angenommen haben. In dem Originale[2]) habe ich jedoch nur die Möglichkeit erörtert, aber nicht diese Thatsache selbst erwähnt gefunden. Wolff erwähnt eine Schleimschicht am Gerinne und auf den Rädern der Mühle, penetranten Geruch in der Radkammer (Verstäuben des Wassers!) und sagt wörtlich: »auch steht wohl zu fürchten, dass das Mehl namentlich bei längerer Aufbewahrung durch Aufnahme der üblen Gase leidet«.

In dem vorliegenden Falle war es jedoch so, dass beim Zerstäuben des Wassers durch das Mühlrad der Geruch nach Schwefelwasserstoff so stark und die Ausbreitung des Gases eine so intensive wurde, dass das Mehl den Geruch annahm. Aus diesen Gründen wurde die Mühle von den umliegenden Dörfern nicht mehr beschickt und der Betrieb der Mühle musste wegen des Geruches von Schwefelwasserstoff aufgegeben werden. Man wird dieses sofort begreifen, wenn ich nochmals darauf hin-

1) Eulenberg, Handbuch der Gewerbe-Hygiene, 1876, S. 502.

2) Wolff, Vierteljahrsschrift für gerichtliche Medicin, 19. Bd., 1873, S. 342 bzw. 348.

weise, dass sowohl der Schlossteich als der Mühlteich direct keinen Geruch nach Schwefelwasserstoff erkennen liessen, dass aber an den Ueberfällen beider Teiche infolge des Zerstäubens des Wassers ein intensiver Geruch nach Schwefelwasserstoff vorhanden war, der in den Wässern selbst übrigens chemisch sicher nachgewiesen wurde und auch beim Erwärmen und Schütteln durch den Geruch wahrnehmbar war.

Die Klärung der Abwässer von Zuckerfabriken erfolgt bis jetzt vorwiegend mit Kalkmilch, wobei drei Einwirkungen beabsichtigt sind: 1. als Calciumhydroxyd soll der Kalk fäulniswidrig wirken und dadurch auch die Entwickelung von üblen Gerüchen verhindern, die bei nicht desinficirten Zuckerabwässern eine Gegend weithin verpesten können; 2. der aus dem Calciumhydroxyd unter der Einwirkung von Kohlensäure sich bildende kohlensaure Kalk soll durch die Bildung von Niederschlägen mechanisch klärend wirken; 3. kommt in Betracht, dass der Kalk chemisch Säuren, aber auch Schwefelwasserstoff bindet und so gegen die Gerüche ankämpft.

Die erste Wirkung ist nur zu erreichen, wenn der Zusatz so stark ist, dass die Abwässer mit alkalischer Reaction abfliessen. Bei dem hohen Gehalte an organischen Stoffen tritt dann aber leicht eine theilweise Aufschliessung und Lösung derselben ein und die Wässer unterhalb enthalten dann oft mehr gelöste organische Stoffe als ohne Klärung.

Da auch bei genügend starkem Zusatze von Kalkmilch unter dem Einflusse der Kohlensäure bei langem Laufe des Abwassers sämmtlicher Kalk in Form von kohlensaurem Kalke erscheint, der sich zu Boden setzt, so hört bald jede desinficirende Wirkung des Kalkes auf und der kohlensaure Kalk wirkt durch Erhalten einer neutralen Reaction erst recht fäulnisbegünstigend. Dieses ist um so mehr der Fall, als die Menge der gelösten organischen Stoffe oft zunimmt.

Auch die rein chemische Wirkung der Kalkmilch ist eine durchaus ungenügende, und eine vollständige Bindung von Schwefelwasserstoff wird damit nicht erreicht. Sollte eine Klärung mit Kalkmilch bei langem Laufe der Abwässer und der

die Abwässer aufnehmenden Bäche einen durchgreifenden Erfolg haben, so müsste in einiger Entfernung wiederum eine Klärung bewirkt werden, bis eine genügende Verdünnung mit reineren seitlichen Zuflüssen möglich wäre.

Die Niederschläge von kohlensaurem Kalk, die sich allmählich im Bachbette bilden, sorgen ausserdem dafür, dass eine Nachwirkung der Campagne eintritt und selbst in der freien Zwischenzeit eine spontane Reinigung derartig verunreinigter Bachbette nicht zu Stande kommt.

Die Klärung der Abwässer mit Kalkmilch muss demnach als eine ganz ungenügende bezeichnet werden und stellt keine Lösung der Frage dar.

Die Mitanwendung von Metallsalzen neben der Kalkmilch, welche aus chemischen Gründen angerathen wurde, verbessert das Resultat in Bezug auf die Klärung gar nicht, verschlechtert es jedoch noch in Bezug auf die Desinfectionswirkung.

Unter diesen Umständen dürfte es endlich an der Zeit sein, die Klärung der Abwässer von Zuckerfabriken systematisch in Angriff zu nehmen. Nachdem wir in der Klärung der städtischen Abfallswässer in den letzten Jahren durch die biologisch-sedimentirenden Verfahren und durch das Kohlebreihumusverfahren entschiedene Fortschritte zu verzeichnen haben, erscheint es nicht mehr aussichtslos, auch die unangenehmen Zuckerabwässer in besserer Weise zu reinigen.

Bei der Kostspieligkeit dieser Arbeiten ist es dem einzelnen Forscher unmöglich, mit Laboratoriumsmitteln die nöthigen Versuche zu machen, und es wäre wohl an der Zeit, dass die interessirten industriellen Kreise in ähnlicher Weise derartige Arbeiten förderten, wie es die landwirthschaftlichen Verbände schon in anderen Fragen gethan haben. Bei dem absoluten Indifferentismus der Industrie in Oesterreich sollten wenigstens die deutschen Zuckerindustriellen dieser Frage näher treten.

Der Staat kann auf jeden Fall nicht dulden, dass die Zuckerfabriken zu einer sanitären Gefahr für die Umgebung werden, trotzdem sie als kräftige Steuerträger zweifellos manche Berücksichtigung verdienen. Eine solche Duldung wäre eine

höchst sonderbare Auffassung über Förderung der Industrie. Das öffentliche Wohl bleibt immer übergeordnet.

Das einzige Verfahren, welches zur Zeit etwas leistet, ist die Rieselung. Aber dies ist auch keine vollständige Lösung, weil die Zuckerfabriken in der Regel nur im Spätherbst und Winter arbeiten, so dass eine Ausnützung der Rieselflächen durch Vegetationen nicht in Betracht kommt. Ausserdem fällt bei der Berieselung in's Gewicht, dass die Wässer einer Vorreinigung durch Fäulnis unterzogen werden müssen, ehe sie zur Berieselung verwerthet werden können, und damit wird die Unannehmlichkeit der intensiven Fäulnis dieser Wässer nur localisirt, aber nicht behoben.

Ueber die Einwirkung von Kochsalz auf Bacterien, die bei den sog. Fleischvergiftungen eine Rolle spielen.

Von

Eduard Stadler,

appr. Arzt aus Bremen.

(Aus dem Institut für Hygiene und Bacteriologie an der Universität Strassburg.)

Veranlasst durch die Erstattung eines Gutachtens über die Frage, ob gesalzenes und geräuchertes Fleisch einer amtlichen Beschau in ebenso ausgedehnter Weise wie frisches Fleisch unterworfen werden sollte, führten Prof. Forster und de Freytag[1]) im Laufe des Jahres 1889 Versuche aus über den Einfluss gesättigter Kochsalzlösungen auf verschiedene pathogene Bacterien und besonders auf solche, die als Erreger von Krankheiten unserer Hausthiere eine hervorragende Rolle spielen und durch den Genuss kranken Fleisches gegebenen Falls auf den Menschen übertragen werden könnten. Die Beantwortung dieser Frage war vom sanitären Standpunkte aus um so dringender geboten, als das Kochsalz von Alters her für ein kräftiges Desinficiens gehalten, dagegen von Koch[2]) in seiner grundlegenden Arbeit über Desinfection als eine selbst in concentrirten Lösungen den Bacterien gegenüber verhältnissmässig wenig oder gar nicht schädliche Substanz bezeichnet wurde. Die erwähnten, in systematischer Weise angestellten Versuche ergaben denn auch für die meisten zu den Beobachtungen herangezogenen

1) de Freytag, Ueber die Einwirkung concentrirter Kochsalzlösungen auf Bacterien. Arch. f. Hyg., Bd. XI, 1.

2) R. Koch, Ueber Desinfection. Mittheilungen a. d. kais. Gesundheitsamte, 1881, Bd. I.

Bacterien einen hohen Grad von Resistenz gegen Kochsalz; nur die Cholerabacillen und die vegetativen Formen des Milzbrandbacillus wurden nach relativ kurzer Zeit durch die Einwirkung des Kochsalzes abgetödtet.

Im Laufe des letzten Jahrzehnts ist beim Auftreten von Massenerkrankungen nach Genuss infectiösen Fleisches in diesem eine Reihe von Bacterien gefunden und beschrieben worden, die fast sämmtlich dem Bacterium coli commune ähnliche Eigenschaften aufweisen und wohl als Rassen ein und desselben Organismus aufzufassen sind. In der Arbeit de Freytag's sind nun keine Versuche mit Bacterien, die zu dieser Gruppe gehören, angestellt worden. Ihr häufiges Vorkommen bei den sog. Fleischvergiftungen lässt aber die Frage nicht unwichtig erscheinen, ob diese Bacterien in Kochsalzlösungen, wie sie bei den verschiedenen Pökelverfahren angewandt werden, eine Schädigung erfahren, ob also Fleisch, welches Bacterien dieser Art enthält, durch den Pökelprocess seine gesundheitsschädlichen Eigenschaften verliert. Ich folgte daher gerne einem Auftrage von Prof. Forster, in dieser Richtung eine Reihe von Versuchen anzustellen.

Zunächst muss erwähnt werden, dass die Art des Pökelns in verschiedenen Ländern und für verschiedene Fleischsorten und -Stücke eine sehr ungleiche ist. In Nordwestdeutschland reiben die Bauern zu pökelndes Schweinefleisch so kräftig mit Salz ein — die Schinken unter Zusatz geringer Mengen Salpeter zum Kochsalz —, bis kein Salz von dem Fleische mehr aufgenommen wird. Die Schinken werden dann zu unterst in das Pökelfass gelegt, dessen Boden vorher dünn mit Salz bestreut ist, darauf die übrigen Fleischstücke fest geschichtet und lagenweise Salz dazwischen gegeben, zu oberst kommen die Speckseiten; das Fleisch bleibt 8 bis 14 Tage im Salze liegen.

Auf diese Weise behandeltes Fleisch ist trocken, ohne einen unangenehm salzigen Geschmack zu haben. Infolge der starken Wasserentziehung durch das kräftige Einreiben der Stücke mit Kochsalz ohne Wasserzugabe u. s. w. verliert das Fleisch bedeutend an Gewicht; das käufliche Pökelfleisch wird daher

zur Vermeidung dieses Verlustes von den Metzgern in der Stadt gewöhnlich anders behandelt. Hier werden die nur schwach mit Salz eingeriebenen Schinken in Tonnen geschichtet und mit einer Salzwasserlösung übergossen. Den Kochsalzgehalt derselben bestimmte ich bei zwei verschiedenen Händlern auf 26,9 bezw. 25,4%[1]. Die Schinken bleiben 3 bis 5 Wochen von dem Salzwasser völlig bedeckt im Fasse liegen, während welcher Zeit der Salzgehalt des Pökelwassers infolge der Aufnahme von Kochsalz und Abgabe von Wasser seitens des Schinkens bedeutend sinkt. So bestimmte ich den NaCl-Gehalt von $3\frac{1}{2}$, bezw. 4 Wochen alter Salzlake auf 14,6, bezw. 16,1%. Vielfach ist es dann Sitte, in die alte, bereits für die Schinken benutzte Pökellake, ohne weiteres Zugeben von Salz, Speckseiten und Rippstücke einzulegen, so lange bis die Lake erfahrungsgemäss infolge ihres geringen Kochsalzgehaltes für nicht mehr genügend erachtet wird.

Ein anderes Verfahren wird, wie Prof. Forster mir erzählte, in den Dörfern Südbayerns, in der Gegend des Bodensees geübt. Das Schlachten wie die Behandlung des Fleisches wird daselbst von einem Gemeindemetzger besorgt, der nacheinander auf den einzelnen Gehöften schlachtet. Das zu pökelnde Schweinefleisch, Schinken sowohl wie Schulterstücke und Speckseiten, wird mit Salz bestreut lagenweise in einem Fasse fest aufgeschichtet. Nach ungefähr 3 Wochen Liegezeit sind die kleineren Fleischstücke genügend gesalzen und kommen in die Räucherkammer, die Schinken jedoch werden dem Nachbar gebracht, der an dem betreffenden Tage frisch einsalzt, und nun zu unterst in dessen Pökelfass gelegt. Dieselben machen daher die ganze Procedur zweimal durch, ein nicht zu unterschätzender Vortheil, da etwaige Keime, die sich in der ersten, nur noch wenig Kochsalz haltenden Salzlake entwickelt haben könnten, durch die frische Salzlösung mit dem hohen Kochsalz-

1) 10 ccm Pökellake wurden mit dest. Wasser bis zu 100 ccm aufgefüllt. 5 ccm dieser Verdünnung, also 0,5 ccm der ursprünglichen Pökellake erforderten 23 ccm $\frac{1}{10}$ Norm.-Silbernitratlösung = 0,1345 g NaCl; folglich in 1 ccm Lake = 0,2690 g und in 100 = 26,90 g NaCl.

gehalte in ihrer Weiterentwicklung sicher gehemmt werden, wie unsere Versuche ergeben werden.

Andere Zubereitungsweisen des Pökelfleisches unterscheiden sich besonders durch bestimmte Zusätze zur Pökellake und durch die Dauer der Zeit, während welcher das Fleisch dem Salzen und dem nachfolgenden Räuchern ausgesetzt wird. So wird z. B. zur Herstellung des berühmten Hamburger Rauchfleisches ein Stück Rindfleisch von 6 bis 8 Pfund mit einem Gemisch von 250 g Salz, 10 g Salpeter, 30 g Zucker und 1/2 Glas Rothwein eingerieben, in dieser Lake drei Tage liegen gelassen und häufig mit dem herausfliessenden Safte begossen; später wird es 8 Tage lang geräuchert. Bremer »Nagelholz« wird in der Weise zubereitet, dass ein Stück Rindfleisch einige Minuten in kochendes Wasser gehalten, dann mit viel Salz, etwas Zucker und wenig Salpeter von allen Seiten eingerieben, und in diesem Zustande einen Tag in die Luft und weitere acht Tage in den Rauch gehängt wird.

Das von Fruth[1]) angegebene Verfahren der Schnellpökelung, bei welchem Kochsalz unter einem Drucke von zwanzig Atmosphären in einen zur einen Hälfte mit Fleisch, zur anderen Hälfte mit Kochsalzlösung gefüllten, luftdicht verschliessbaren eisernen Kessel eingepumpt wird, sowie das Pökelverfahren Morgan's[2]), der eine Salzlake von bestimmter Zusammensetzung unmittelbar nach dem Tode des Schlachtthieres mittels Trokar durch den linken Herzventrikel in die vorher blutleer gemachten Gefässe injicirte, haben praktisch keine Bedeutung erlangt.

In der Praxis wird also beim Pökeln des Fleisches das Kochsalz in concentrirter Form bis zu Lösungen von ungefähr 6 bis 8% und weniger herab angewandt — der Zusatz von Salpeter und Zucker dient nur zur Erhaltung der rothen Fleischfarbe und ist bei den geringen Mengen, die in Anwendung

1) W. Fruth, Wie kann finniges und trichinöses Fleisch für den menschlichen Genuss unschädlich gemacht werden? Inaugural-Dissertation, München 1880.

2) Citirt nach Schmidt's medicinischen Jahrbüchern, Bd. 162. (Conservirung der Nahrungsmittel von L. Perl.)

kommen, hygienisch und bacteriologisch ohne weitere Bedeutung.

Von den Erfahrungen Prof. Forster's und de Freytag's ausgehend, nach denen der grösste Theil der von ihnen beobachteten Bacterien sich dem reinen Kochsalz gegenüber sehr resistent erwies, stellte ich mir zunächst die Aufgabe, die Zeit zu bestimmen, innerhalb welcher die, bei den sog. Fleischvergiftungen gefundenen Bacterien durch die Einwirkung von concentrirten Kochsalzlösungen abgetödtet wurden. Nebenbei wurde für die gleiche Frage das Verhalten einiger Mikroorganismen geprüft, die mancherlei Aehnlichkeiten mit dem Bacterium coli zeigen, und schliesslich fanden die Untersuchungen de Freytag's für die Erreger des Typhus und der Diphtherie, sowie für den Staphylococcus eine Wiederholung.

Wie bereits erwähnt, erstreckten sich die Versuche de Freytag's im wesentlichen nur auf die Feststellung der Zeit, innerhalb welcher verschiedene Bacterien durch concentrirte Kochsalzlösungen eine Abtödtung erfuhren. In Kürze will ich die Versuchsanordnung und die Resultate hier wiedergeben. Kräftige Culturen von Typhoidbacillen, Bacillen des Schweinerothlaufs, Cholerabacillen, Eiterstaphylococcen, Erysipelcoccen, Tuberkelbacillen, von sporenhaltigen Milzbrandbacillen und von Diphteriebacillen, jede Art auf dem ihr am meisten zusagenden Nährmaterial gezüchtet, wurden mit Kochsalz bedeckt, bezw. die flüssigen Nährmedien mit Kochsalz gesättigt, und zu bestimmten Zeiten Ueberimpfungen von diesen Culturen auf gewöhnliche Nährböden — 10proc. Nährgelatine, Agar oder Löffler'sche Bouillon — gemacht. Zur Prüfung der Resistenz der vegetativen Formen des Bacillus anthracis wurden Leber und Milz von Versuchsthieren, die nachweislich an Milzbrand zu Grunde gegangen waren, eingesalzen, und nach Verlauf verschieden langer Zeiten theils durch Ueberbringen auf Nährböden, theils durch Impfung von Versuchsthieren das Verhalten des Bacterienmaterials controlirt. Das gleiche Verfahren wurde auch zur Beobachtung von Tuberkelbacillen eingeschlagen, die im Sputum eines Phthisikers und in Perlsuchtknoten tuberculöser Rinder vorhanden waren;

Sputum und die perlsüchtigen Organe wurden mit Salz bedeckt, und die Virulenz der Bacterien durch Impfung von Versuchsthieren nachgewiesen.

Als Ergebnisse ihrer Versuche fanden Prof. Forster und de Freytag, dass unter dem Einflusse von concentrirten Kochsalzlösungen zu Grunde gehen:

Milzbrandbacillen	nach zwei Stunden,
Sporen der Milzbrandbacillen	noch nicht nach 6 Monaten,
Typhoidbacillen	nach stark 5 Monaten,
Bacillen des Schweinerothlaufs	nach stark 2 Monaten,
Cholerabacillen	nach 6 bis 8 Stunden,
Erysipelstreptococcen	noch nicht nach 2 Monaten,
Eiterstaphylococcen	nach stark 5 Monaten,
Tuberkelbacillen	noch nicht nach 3 Monaten,
Diphtheriebacillen	noch nicht nach 3 Wochen.

Da nach diesen Ergebnissen einander ziemlich nahestehende Bacterien ein ungleiches Verhalten gegenüber der Einwirkung von Kochsalz zeigen, so war es nicht ausgeschlossen, dass die verschiedenen bei den Fleischvergiftungen gefundenen Arten, auch wenn sie zu ein und derselben Bacteriengruppe gehörten, ebenfalls ungleiche Resultate liefern würden. Unsere Untersuchungen über die Resistenz gegen Kochsalz erstrecken sich deshalb auf das Bacterium coli commune, den Bacillus enteritidis Gärtner und den Bacillus morbificans bovis Forster-Basenau; ihnen wurde noch der ebenfalls bei gewissen Fleischvergiftungen gefundene Proteus vulgaris Hauser angereiht.[1])

Die Anordnung unserer Versuche ist eine ähnliche wie diejenige de Freytag's; der Hauptunterschied liegt wohl darin, dass keine Virulenzprüfungen der Bacterien an Versuchsthieren,

1) Die Prüfung des Bacillus botulinus van Ermengem, dessen Verhalten in schwächeren Kochsalzlösungen schon theilweise von van Ermengem selbst studirt worden ist (s. unten), musste zu unserem Bedauern unterbleiben, weil die im hiesigen Laboratorium vorhandenen Culturen sich zu der Zeit, da die obigen Untersuchungen ausgeführt wurden, als nicht lebensfähig erwiesen.

sondern lediglich Controlimpfungen auf gewöhnliche Nährböden ausgeführt worden sind. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, dass Reinculturen der Bacterien auf Agar, die nach fünf- bis sechstägigem Wachsthum bei Bruttemperatur auf dem Nährboden einen dicken Rasen gebildet hatten, mit chemisch reinem, fein gepulvertem, sterilisiertem Kochsalz so bestreut wurden, dass die Colonien vom Kochsalze in dünner Schicht bedeckt, also gewissermaassen eingepökelt waren. Zur Controle dieser Versuchsreihe wurden weiterhin von, denselben Culturen entstammenden Bacterien Reinculturen in gewöhnlicher Löffler'scher Bouillon, ungefähr 10 ccm im Reagensglase, angelegt, und diese gleichfalls nach sechstägigem Wachsthum bei 37 °C. mit Kochsalz gesättigt, so dass ein kräftiger Bodensatz von Salz durch die ganze Dauer der Versuchszeit sich erhielt. Sämmtliche Culturen wurden nach dem Einsalzen, vor Licht und grösseren Temperaturschwankungen geschützt, bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Was die Methode der Untersuchung anbelangt, so will ich zunächst mehrere bei allen Bacterien in fast gleicher Weise angewandte Einzelheiten meines Verfahrens angeben, um bei der Beschreibung der Einzelversuche allzuhäufige Wiederholungen zu vermeiden. Die Ueberimpfungen aus den Salzculturen führte ich anfangs in Zwischenräumen von zwei Tagen, später in mehrtägigen Intervallen aus, und zwar während der ersten zwei Wochen des Versuches in Form von Strichculturen auf 10proc. Gelatine, weiterhin, als sich bei einigen Bacterien eine bedeutende Verminderung des Wachsthums zeigte, in Erlenmeyer'sche Kölbchen mit 25 ccm Löffler'scher Bouillon Inhalt. Letztere Methode war schon deshalb vortheilhafter, weil hiebei das Kochsalz, dessen Uebertragung in geringen Quantitäten bei der Ueberimpfung ja nicht zu vermeiden war, eine starke Verdünnung erfuhr. In der gleichen Absicht wandte ich anfangs bei den Gelatinestrichculturen die fractionirte Impfung an und vermied dadurch auch eine Verflüssigung der Gelatine durch Ueberbringung zu reichlicher Mengen Kochsalzes. Von den überimpften Bouillonculturen wurden stets zur Controle der Reinheit Gelatinestriche angelegt, und diese sowohl wie die direct von

den Salzculturen aus gemachten Gelatinestriche makroskopisch und häufig auch mikroskopisch einer genauen Untersuchung auf Verunreinigungen hin unterzogen.

Vorausschicken will ich noch, dass ich, wie erwähnt, von einer Prüfung der Virulenz meiner Bacterienarten durch den Thierversuch absah, dass ich jedoch, um sicher mit frischem Material zu arbeiten, die theils schon mehrere Wochen alten Culturen der hiesigen Sammlung durch vier Tage nacheinander fortgesetztes Ueberimpfen in Bouillon auffrischte.

Nach diesen Vorbemerkungen gehe ich nunmehr zur Beschreibung der Einzelversuche über.

I. Bacterium coli commune.

Von den drei Coliarten, die ich zu den Versuchen heranzog, stammt das in der hiesigen Sammlung als Coli S bezeichnete ursprünglich von einer beim Menschen beobachteten Peritonitis und ist seit ungefähr 1 bis $1^1/_2$ Jahren als Reincultur hier fortgezüchtet worden. Die 2. Coliart wurde vor Kurzem aus menschlichen Faeces gezüchtet, die 3. war aus einer verendeten Ratte gewonnen, die in das hiesige Institut zur Feststellung der Todesursache eingeliefert war. Alle 3 Arten zeigten das typische Wachsthum auf den verschiedenen Nährböden; die Prüfung auf Gasentwicklung in Traubenzuckerbouillon, sowie die Nitrosoindolreaction fielen positiv aus. Während der ersten 10 Tage nach dem Einsalzen zeigten die Bacterien noch eine normal zu nennende Entwicklung auf Gelatine; allmählich verlangsamte sich jedoch das Wachsthum, nach 16 Tagen erschienen die Colonien erst 48 bis 72 Stunden nach der Impfung und breiteten sich ganz erheblich langsamer aus, als es bei Bacterien der Fall ist, die von den gewöhnlich angewandten Nährböden stammen. Es war also entschieden eine Abschwächung der Wachsthumsenergie der Bacterien durch die Einwirkung des Kochsalzes zu bemerken. Nach 21 Tagen ergab die Gelatine-Impfung von der Salzagarcultur, welche mit der aus der Ratte gezüchteten Coliart beschickt war, ein negatives Resultat. Zwecks besserer Vertheilung des nothwendigerweise mit übergebrachten Kochsalzes

und auch um die Bacterien der Bruttemperatur aussetzen zu können, ihre Entwicklungsverhältnisse also möglichst günstig zu gestalten, wurden von nun an die Impfungen bei allen drei Coliarten statt auf Gelatine in 25 ccm Löffler'scher Bouillon gemacht. Doch auch hier zeigte das Coli aus der Ratte kein Wachsthum mehr, es hatte also eine Abtödtung derselben durch Kochsalz nach drei Wochen stattgefunden. Ein ähnliches Verhalten zeigte die mit Salz gesättigte Bouilloncultur dieser Coliart. Hier sistirte das Wachsthum nach der Ueberimpfung auf Gelatine bereits nach 16 Tagen. Am 17. Tage mit zwei Tropfen der Salzbouillon geimpfte Löffler'sche Bouillon (100 ccm) wurde noch nach drei Tagen getrübt; eine Controlcultur hievon auf Gelatine ergab eine Reincultur von Bacterium coli. In gleicher Art und Weise am 18. Tage nach dem Einsalzen geimpfte Löffler'sche Bouillon (100 ccm) blieb steril. Nun wurde der gesammte Inhalt der Salzbouillon in einen Erlenmeyer'schen Kolben mit 500 ccm Bouillon gegeben: dieselbe zeigte nach 8 Tagen noch keine Trübung; damit erscheint die Abtödtung der Bacterien gesichert und zwar in der eingesalzenen Bouilloncultur bereits nach 18 Tagen gegenüber 21 in der Agarcultur.

Sowohl die vorhin als Coli S bezeichnete wie auch die frisch aus menschlichen Faeces gezüchtete Art zeigen noch heute; 6½ Wochen nach dem Einsalzen, bei Uebertragung in Löffler'sche Bouillon ein kräftiges, wenn auch etwas verlangsamtes Wachsthum in derselben.

Herr Prof. Forster hatte mehrere Monate vorher bereits einige Vorversuche über das Verhalten verschiedener, in Agarstrichculturen gezüchteten Coliarten gegenüber der Einwirkung des Kochsalzes gemacht und dabei auch das Coli S und dasjenige aus der Ratte herangezogen. Für beide constatirte er eine Entwicklung auf Gelatinestrich nach 6 bezw. 7 Tagen; eine weitere nach ungefähr 3½ Monaten gemachte Impfung auf Gelatine blieb erfolglos. Die gleichen Resultate erzielte Herr Prof. Forster bei einer Colicultur, die aus der Peritonealflüssigkeit eines mit Coli geimpften Meerschweinchens gezüchtet war. Dagegen erwies sich ein anderes, aus menschlichen Faeces

gezüchtetes Bacterium coli noch $3\frac{1}{2}$ Monate nach dem Einsalzen durch Entwicklung von Colonien auf Gelatine als nicht abgetödtet. Dem eventuellen Einwande gegenüber, dass die Bedeckung mit Kochsalz vielleicht keine vollkommene gewesen sei, führe ich gleich hier an, dass sich auf der Agarcultur eine dicke, glatte Salzkruste gebildet hatte. Diese Kruste wurde, um jetzt, neun Monate nach dem Einsalzen, das Verhalten der Coliart zu prüfen, mittels Löffler'scher Bouillon aufgelöst und diese Bouillon, nachdem sie eine Zeit lang mit der vom Salze nunmehr befreiten Oberfläche der Agarcultur in Berührung gewesen war, in einen Erlenmeyer'schen Kolben mit 500 ccm Bouillon Inhalt geschüttet. Es trat in den nächsten 14 Tagen keine Trübung der Bouillon ein, die Colicultur war also nunmehr unter dem Kochsalze abgetödtet gewesen.

Auf die Frage, worauf das verschiedene Verhalten der Coliarten dem Kochsalz gegenüber zu beziehen sein könnte, will ich hier nicht näher eingehen, da es vom eigentlichen Thema zu weit abführen würde. Unter dem Sammelnamen des Bacterium coli ist eine ganze Anzahl von Rassen begriffen, die in vielen culturellen und morphologischen Eigenschaften gleich oder sehr ähnlich sind, in manchen, besonders den biologischen, dagegen nicht unbedeutend von einander abweichen; ich erwähne nur das Verhalten von Colibacterien verschiedener Herkunft bei der Agglutinationsprüfung, eine Frage, die vor Kurzem im hiesigen bacteriologischen Institute durch den, einer fruchtbaren wissenschaftlichen Thätigkeit durch frühzeitigen Tod entrissenen Dr. Sidney Wolf[1]) einem eingehenden Studium unterzogen wurde. Fünf Thierversuche ergaben die auffallende Thatsache, dass „die Sera der verschiedenen Thiere nur gegen denjenigen Colistamm agglutinirten, mit welchem sie geimpft worden waren.“ Zu ähnlichen Resultaten gelangte Wolf bei der Prüfung von Colibacterien, die beim Menschen beobachteten Affectionen entstammten.

---

1) Sidney Wolf, Beiträge zur Lehre der Agglutination, mit besonderer Bezugnahme auf die Differencirung der Coli- und Proteusgruppe und auf die Mischinfection. Als Manuskript gedruckt. Strassburg 1898.

2. Bacillus enteritidis Gärtner.

Der Entdeckung und ersten eingehenden Beschreibung des Bacillus enteritidis durch Gärtner, der denselben als Erreger einer Fleischvergiftungsepidemie in Frankenhausen a. Kyffh. im Jahre 1888 isolirte, ist eine Reihe von Litteraturangaben gefolgt, in denen ähnliche Befunde in klinischer und bacteriologischer Beziehung festgestellt wurden. Zu meinen Versuchen benutzte ich eine Enteritidiscultur, die schon seit einiger Zeit im Institut auf Gelatine weitergezüchtet war. Vor Beginn der Versuche wurden einige Eigenschaften der Cultur geprüft; Traubenzuckerbouillon wurde unter Gasbildung vergährt, Milch coagulirt, Indolbildung war nicht nachzuweisen.

Von der 3. Woche ab nach dem Einsalzen fiel mir, wie ich beim Bacterium coli bereits kurz erwähnte, beim Bacillus enteritidis und auch bei fast allen noch zu beschreibenden Bacterien die Erscheinung auf, dass die Colonien auf den Gelatinestrichen allmählich immer längere Zeit zu ihrer Entwicklung nöthig hatten, und später auch das Eintreten der Trübung in der Bouillon 3 bis 5, ja sogar bis zu 8 Tagen auf sich warten liess. Fernerhin beobachtete ich, dass die in der Bouillon gebildete Cultur eine ungemein zähe und dicke Masse darstellte, wie ich sie bei ungeschwächten Culturen nie gesehen habe.

Die erste resultatlos verlaufende Ueberimpfung von den eingesalzenen Bouillon- und Agarkulturen aus fand ungefähr 4½ Wochen nach der Beschickung mit Salz statt. Auch in der Folgezeit ausgeführte Impfungen mit grösseren Bouillonmengen zeigten keine Entwicklung im frischen Nährmedium. Der Bacillus enteriditis war also nach Verlauf von 4½ Wochen durch das Kochsalz abgetödtet.

3. Bacillus morbificans bovis.

Die zu den Versuchen verwandte Cultur dieses Bacillus war seit Jahren im hiesigen Institute gezüchtet; für dieselbe trafen die von Basenau[1]) eingehend beschriebenen Eigen-

1) F. Basenau, Ueber eine im Fleisch gefundene infectiöse Bacterie. Arch. f. Hyg., Bd. XX, 1894.

schaften des Morbificans sämmtlich zu. Da Basenau[1]) in seiner Abhandlung über die Geschichte der Fleischvergiftungen ein Absterben des Bacillus morbificans durch die Einwirkung concentrirter Kochsalzlösungen bereits nach 4 Tagen für Bouillonculturen, nach 11 für Agarstrichculturen angibt, so führte ich in der ersten Zeit bei diesem Bacterium häufigere Ueberimpfungen aus, um eine möglichst genaue Grenzzeit der Lebensfähigkeit unter den Versuchsbedingungen zu erhalten. Entgegen Basenau fand ich den Morbificans jedoch bei einer 20 Tage nach der Salzbedeckung ausgeführten Impfung von der Salzagarcultur noch in Bouillon entwicklungsfähig; die am 22. Tage gemachte Impfung war die erste, welche ein negatives Resultat ergab, desgleichen verliefen spätere Uebertragungen in Bouillon erfolglos. Aus der Kochsalzbouillon entnommene Bacterien erwiesen sich 16 Tage nach dem Einsalzen noch lebens- und entwicklungsfähig; die erste erfolglose Impfung stammte hier vom 19. Tage; auch später mit grösseren Mengen Material geimpfte Löffler'sche Bouillon (250 ccm) blieb steril.

Der Bacillus morbificans erwies sich also nach meinen Versuchen durch die Einwirkung von Kochsalz nach ungefähr drei Wochen abgetödtet.

Die Verschiedenheit der Resultate Basenau's gegenüber den meinigen beruht vielleicht darauf, dass Basenau weniger kräftig entwickelte Culturen mit Salz bedeckte, als es bei meinen Versuchen der Fall war. Es ist ja eine bekannte Thatsache, dass die antibacterielle Wirkung einer chemischen Substanz ausser von verschiedenen anderen Factoren wie Concentration, Dauer der Wirkung, Temperatur u. s. w., besonders von der Zahl und der Lebenskräftigkeit der Keime abhängt, welche dem chemischen Agens ausgesetzt sind, ein Punkt, der in diesem Falle gewiss Berücksichtigung verdient und den ich später noch besprechen werde.

---

1) F. Basenau, Weitere Beiträge zur Geschichte der sog. Fleischvergiftungen. Arch. f. Hyg., Bd. XXXII, 1898.

4. Bacillus Proteus vulgaris Hauser.

Obgleich der Proteus nicht zu den Erregern der typischen sogen. Fleischvergiftungen zu rechnen ist, da er sich auf dem Fleische erst postmortal ansiedelt und dann den Zustand »des Verdorbenseins« des Fleisches hervorruft, so muss ich ihn doch in den Kreis dieser Betrachtungen hineinziehen, weil er bereits mehrfach als Veranlasser von Krankheitserscheinungen beschrieben worden ist, die auf den Genuss abnormalen Fleisches folgten. Die zu meinen Versuchen verwendete Cultur war von mir kurz vorher aus faulem Fleisch gezüchtet und erwies sich als Reincultur des Proteus vulgaris. Leider wurden die Abtödtungsversuche mit dem Proteus später als mit den übrigen Bacterien begonnen. Die bis heute ausgeführten Impfungen aus der eingesalzenen Proteusbouilloncultur auf Agarstriche ergaben das Resultat, dass der Proteus vulgaris durch concentrirte Kochsalzlösungen nach 3 Wochen noch nicht abgetödtet war.

In gleicher Weise wie bei den Fleischvergiftungsbacterien führte ich nebenbei Versuche mit Typhus- und Diphtheriebacillen, mit dem Staphylococcus, dem Bacterium aerogenes lactis und mit Pestbacillen aus. Letztere beiden zog ich mancher coliähnlichen Cultur-Eigenschaften halber zu den Versuchen heran.

5. Typhusbacillus.

Die von mir benutzte Cultur war bereits seit einiger Zeit im hiesigen Institute auf künstlichen Nährböden gezüchtet. Die Impfungen von der Salzagarcultur aus ergaben bis heute, $1/^1_2$ Monate nach der Bedeckung mit Salz, positive Resultate; dagegen erwies sich die eingesalzene Bouilloncultur, in welcher über dem, am Boden des Culturröhrchens befindlichen Kochsalzüberschuss eine dicke, wolkenartig sich abhebende Bacterienmasse lagerte, selbst beim Ueberbringen der ganzen, schliesslich noch übrigen Menge — ca. 6 ccm — in 500 ccm Löffler'scher Bouillon nach $4^1/_2$ Wochen als abgetödtet. Die bei den erwähnten Vorversuchen von Herrn Prof. Forster angelegte

Salzagarcultur der Typhusbacillen zeigte bei einer $3^1/_2$ Monate nach dem Einsalzen ausgeführten Impfung kein Wachsthum mehr. Demgegenüber steht das Resultat de Freytag's, das von Behring[1]) bestätigt wird, demzufolge die Typhusbacillen erst nach stark 5 Monaten durch Kochsalz zum Absterben gebracht werden. Ob die Ungleichheit dieser Ergebnisse auf die mehr oder minder starke Entwicklung der Culturen vor dem Einsalzen zurückzuführen ist, will ich dahingestellt sein lassen.

6. Diphtheriebacillen.

Die Ueberimpfungen aus den Salzculturen machte ich bei dem Diphtheriebacillus stets auf Löffler'sches Blutserum als dem, den Bacterien am meisten zusagenden Nährboden, auf welchem gleichzeitig die Reinheit der Cultur durch das typische Wachsthum schon makroskopisch festzustellen war. Beide Salzculturen lieferten beim Abschluss der Versuche nach $4^1/_2$ Wochen noch positive Resultate. Die unter Prof. Forster's Vorversuchen befindliche Diphtheriecultur erwies sich bei einer 3 Monate nach der Salzbedeckung gemachten Impfung als abgetödtet.

7. Staphylococcus pyogenes aureus.

Die kurz vor Beginn der Versuche aus Abscesseiter frisch gezüchteten Culturen erwiesen sich bei Schluss der Versuchsreihe, 6 Wochen nach dem Einsalzen, noch lebens- und entwicklungsfähig. de Freytag fand seine Staphylococcenculturen nach stark 5 Monaten abgetödtet.

8. Bacterium aerogenes lactis.

Die Agarcultur ergab $4^1/_2$ Wochen nach der Bestreuung mit Kochsalz das erste negative Resultat; die eingesalzene Bouilloncultur, die eine zähflüssige, schleimige Masse darstellt, zeigt eine bedeutend verzögerte Entwicklung in der controlierenden Bouillon, ist jedoch noch heute, 6 Wochen nach dem Einsalzen, lebensfähig.

---

1) Behring, Ueber Desinfection, Desinfectionsmittel und Desinfectionsmethoden. Zeitschr. f. Hyg. u. Infectionskrankh., 1890, Bd. IX.

9. Pestbacillen.

Die Pestculturen wurden ihres langsamen Wachsthums halber erst nach achttägiger Entwickelung bei Bruttemperatur als genügend kräftig zum Einsalzen erachtet. Die Agarcultur ergab bereits bei der zweiten Ueberimpfung, die 5 Tage nach der Bedeckung mit Salz ausgeführt war, ein negatives Resultat; die Impfungen aus der Bouilloncultur fielen am 4. Tage nach dem Salzen noch positiv, am 7. dagegen negativ aus, wie auch alle späteren Controlimpfungen. Um sicher zu gehen, wurde 16 Tage nach dem Einsalzen die gesammte mit Kochsalz behandelte Bouilloncultur in einen Erlenmeyer'schen Kolben mit 500 ccm Bouillon geschüttet; die Bouillon trübte sich, eine Controlimpfung aus derselben auf Gelatine liess deutlich typische Pestcolonien erkennen. Der Pestbacillus erwies sich also in concentrirter Kochsalzlösung nach 16 Tagen als noch nicht abgetödtet.

Stellen wir die Ergebnisse aller Versuche tabellarisch zusammen, so sehen wir, dass unter dem Einflusse von concentrirten Kochsalzlösungen bezw. von Kochsalz in Substanz abgetödtet werden.

Tabelle I.

Name des Bacterium	Abtödtung erfolgt
Bact. coli commune S	noch nicht nach 6 Wochen
Bact. coli commune aus Fäces .	noch nicht nach 6 Wochen
Bact. coli commune aus Ratte .	nach 3 Wochen
Bacillus enteritidis Gärtner . .	nach 4 ½ Wochen
Bacillus morbificans bovis . .	nach 3 Wochen
Bacillus proteus vulgaris . . .	noch nicht nach 3 Wochen
Typhusbacillen	noch nicht nach 6 Wochen
Diphtheriebacillen	noch nicht nach 4 ½ Wochen
Eiterstaphylococcen	noch nicht nach 6 Wochen
Bacterium aerogenes lactis . .	noch nicht nach 6 Wochen
Pestbacillen	noch nicht nach 16 Tagen

Wenn auch die Absterbegrenze bei der grössten Zahl der Bacterien erst nach einer längeren Beobachtungszeit als die von mir verwendete festgestellt werden könnte, so genügen die obigen

Resultate für den Zweck dieser Abhandlung völlig, da wir es bei dem üblichen Pökelprocess unter keinen Umständen mit längeren Zeiträumen als 4 bis 5 Wochen, in der Regel aber mit viel kürzeren zu thun haben.

Nach diesen Ergebnissen ist also im allgemeinen anzunehmen, dass durch das Pökeln keine Abtödtung bereits im Fleische vorhandener Bacterien erfolgt, zumal die Pökellake nur in den seltensten Fällen während des ganzen Verlaufs der Procedur eine concentrirte Salzlösung, insbesondere nicht im Innern des Fleisches, darstellen wird. Es drängt sich desshalb weiterhin die Frage auf, wie es denn mit der Vermehrung der Fleischvergiftungsbacterien in kochsalzhaltigen Nährböden bestellt ist, ob hierin überhaupt ein Wachsthum stattfindet, oder ob dieses vielleicht nur in beschränktem Maasse vor sich geht.

Die Beantwortung dieser Fragen erscheint um so wichtiger, als die Thatsache feststeht, dass die meisten der bei Fleischvergiftungen gefundenen pathogenen Bacterien sich bei auffallend niederen Temperaturen noch vermehren können. So constatirt Basenau[1]) für den Morbificans bovis bei einer Temperatur von 8 bis 9 Grad eine ziemlich kräftige Vegetation. »Bei 0° steht das Wachsthum des Bacillus still. Werden aber Culturen bis vorläufig 84 Tage lang im Eiscalorimeter bei einer constanten Temperatur von 0° gehalten und dann wieder in höhere Temperaturen gebracht, so zeigt die kräftige Entwicklung derselben, dass sie den Aufenthalt im Eis ohne Abschwächung ihrer Vermehrungsfähigkeit überstanden haben.« — Für ihre gelegentlich einer Fleischvergiftung in Rotterdam isolierten Bacillen geben Poels und Dhont[2]) an, dass dieselben noch unter 5° C. eine zwar langsame, aber doch merkliche Entwicklung zeigen. Prof. Forster[3]) beobachtete, dass in dem allgemein üblichen Eisschranke, in dem in der Regel eine Temperatur von 4 bis 7° C. herrscht, Bacterien auf verschiedenen Nährsubstanzen ziemlich

1) a. a. O.

2) Vleeschvergiftiging te Rotterdam. Tweede Rapport van de deskundigen Dr. J. Poels en J. J F. Dhont.

3) Centralblatt für Bacteriologie, Bd. XII, 1892.

rasch zur Entwicklung kommen. In Fleischbrei, der bei 0° aufbewahrt wurde, wies Forster nach etwa 16 Tagen ungefähr ebensoviel Zersetzungsproducte nach als im gleichen Fleisch, das 6 bis 7 Tage in einem Keller bei 7 bis 9° oder 2 Tage bei Zimmertemperatur gehalten worden war. E. Levy[1]) stellte bei einer Massenerkrankung nach Genuss infectiösen Fleisches in Strassburg als Erreger derselben den Proteus Hauser fest; der gleiche Bacillus wurde in dem mit Schlamm bedeckten Boden des Eisschrankes gefunden, in welchem das infectiöse Fleisch aufbewahrt worden war. Es hatte also sicher eine Entwicklung des Proteus bei der niederen Eisschranktemperatur stattgefunden. Da das Fleisch nach dem Einsalzen wohl meist in Kellerräumen gehalten wird, so schliesst die daselbst herrschende Temperatur, die bei uns 8 bis 12° betragen dürfte, eine Entwicklung unserer Bacterien nicht aus.

Ich gehe nunmehr zur Besprechung der Anordnung der Versuche über, die wir zur Prüfung des Verhaltens unserer Bacterien in Kochsalzlösungen von niederer Concentration anstellten. In Betreff der Wahl der Kochsalzlösungen waren für uns entscheidend zunächst die Erfahrungen de Freytag's bei den Cholera- und Milzbrandbacillen, für die als äusserster Concentrationsgrad, bei dem noch eine Entwicklung stattfindet, ein Kochsalzgehalt des Nährmediums von 7 % ermittelt wurde, und weiterhin der Befund bei den in praxi verwendeten Pökellaken, deren Kochsalzgehalt bis auf einen gleich niederen Procentsatz herabgehen kann.

Zur Ausführung der Versuche stellte ich mir zunächst sterile Kochsalzlösungen von 14, 20, 24 und ca. 30 % her und füllte mittels steriler Pipetten in Reagensröhrchen je 5 ccm dieser Salzlösungen und 5 ccm einer schwach alkalisch reagirenden Nährbouillon, der 2 % Pepton, aber kein Kochsalz zugesetzt war, so dass ich also Kochsalzbouillon mit genau 7, 10, 12 und ungefähr 15 % Kochsalzgehalt erhielt. In diese Röhrchen mit Kochsalzbouillon wurden nun die betreffenden Bacterien in

1) Archiv f. experiment. Pathologie u. Pharmakologie, Bd. XXXIV, 1894.

verschiedener Quantität, wie für jede Versuchsreihe speciell angegeben werden wird, eingeimpft, und die Röhrchen bei Temperaturen von 22 bzw. 37° C. stets innerhalb eines Glases mit überhängender Kappe, das zu einem Drittel mit Wasser gefüllt war, aufbewahrt. Dadurch waren die Culturen einerseits gegen plötzliche Temperaturschwankungen geschützt, andererseits wurde durch die Aufbewahrung im mit Wasserdampf gesättigten Behälter eine Verdunstung des, in der Kochsalzbouillon enthaltenen Wassers vermieden, wodurch sonst eine allmählich steigende Concentration bei der langen Dauer der einzelnen Versuchsreihen leicht herbeigeführt worden wäre. Direkt nach Beschickung der kochsalzhaltigen Bouillon mit den betreffenden Bacterien, dann nach 24, 48, 72 Stunden und weiterhin in grösseren Zwischenräumen wurden mit geaichten Platindrahtspiralen verschiedener Grösse Ueberimpfungen aus der Kochsalzbouillon auf Gelatine gemacht, und diese in Petri'sche Schalen zu Platten ausgegossen, welche bei 22 bis 26° in feuchten Culturbüchsen gehalten und zum ersten Mal nach fünftägigem Wachsthum zur Zählung der aufgekommenen Colonien geöffnet wurden. Einzelne trotz aller Vorsicht entstandene Verunreinigungen waren durch die abweichende Gestalt der Colonien von unseren Bacterien bereits makroskopisch leicht zu unterscheiden. Da ich fand, dass nach fünftägigem Wachsthum der Platten niemals neue Colonien als die bereits vorhandenen mehr aufkamen, so führte ich regelmässig nach Verlauf dieser Zeit die erste Zählung der Platten aus, die ich dann 8 und 10 Tage später controlirte. Um eine genaue Zählung der Colonien möglich zu machen, musste ich naturgemäss starke Verdünnungen der Culturen herstellen: zu dem Zwecke übertrug ich aus der Reincultur bei jeder einzelnen Versuchsreihe gleiche Mengen Material zunächst in physiologische Kochsalzlösung und nach gehöriger Vertheilung des Materials in derselben in die Kochsalzbouillon.

Nach diesen allgemein gültigen Vorbemerkungen will ich im folgenden die einzelnen Versuchsreihen unter Berücksichtigung der mannigfachen Verschiedenheiten, die sowohl bei der Methode der Versuchsanordnung wie auch bei den Resultaten

sich ergaben, beschreiben. Ausser dem Bacterium coli commune und den, bei den sog. Fleischvergiftungen gefundenen Bacterien, Bacillus enteritidis und Bacillus morbificans bovis, und dem Proteus untersuchte ich nebenbei das Verhalten des Typhusbacillus, obgleich die Kenntnis in dieser Richtung für die Praxis des täglichen Lebens kaum eine Bedeutung hat. Als Versuchsmaterial benutzte ich die schon oben in ihrem Verhalten genauer beschriebenen Culturen, von den Coliarten das Bacterium coli S.

Tabelle II.

Kochsalzbouillonculturen bei 22 bis 24 ° C., davon je 4,3 mg zu den Platten Nach fünftägigem Wachsthum auf Gelatineplatten betrug die Zahl der aufgekommenen Colonien[1]):

1. Bacterium coli.

Bei Plattenguss	7%	12% Na-Cl-Gehalt	15%
Direct nach Impfung d. Kochsalzbouill.	22 (39)	94 (132)	29 (26)
24 Std. » » » »	6 (8)	0 (0)	0 (0)
48 Std. » » » »	34 (22)	0 (0)	0 (0)
4 Tage » » » »	263	0	0
6 Tage » » » »	zahllos	0	0
10 Tage » » » »	zahllos	0	0

Beginnende Trübung der Bouilloncultur von 7 % Na Cl-Gehalt am 5. Tage nach der Impfung. Die 12 und 15 proc. Kochsalzbouillon blieb klar.

2. Bacillus morbificans bovis.

Bei Plattenguss	7%	12% Na Cl-Gehalt	15%
Direct nach Impfung d. Kochsalzbouill.	35 (21)	21 (37)	129 (121)
24 Std. » » » »	2 (4)	0 (0)	0 (0)
48 Std. » » » »	6 (11)	0 (0)	0 (0)
3 Tage » » » »	16 (38)	0 (0)	0 (0)
7 Tage » » » »	zahllos	0	0
11 Tage » » » »	zahllos	0	0

Beginnende Trübung der Bouilloncultur von 7% Na Cl-Gehalt am Ende des 5. Tages nach der Impfung. Die 12 und 15 proc. Kochsalzbouillon blieb klar.

1) Die eingeklammerten Zahlen sind Ergebnisse von Controlplatten, die unter gleichen Bedingungen angelegt und gehalten wurden.

3. Bacillus enteritidis.

Bei Plattenguss	7%	12% NaCl-Gehalt	15%
Direct nach Impfung d. Kochsalzbouill.	39 (46)	28 (26)	19 (16)
24 Std. » » » »	2 (4)	0 (0)	0 (0)
48 Std. » » » »	1 (5)	0 (0)	0 (0)
3 Tage » » » »	3 (0)	0 (0)	0 (0)
5 Tage » » » »	1839 (1714)	0	0
8 Tage » » » »	zahllos	0	0
11 Tage » » » »	zahllos	0	0

Trübung der Bouilloncultur von 7% NaCl-Gehalt am 6. Tage nach der Impfung. Die beiden anderen Culturen blieben klar.

Diese erste Versuchsreihe, in welcher die Salzculturen bei einer Temperatur von 20 bis 24° C. gehalten wurden, leidet vielleicht unter dem Fehler, dass aus der Kochsalzbouillon eine sehr geringe Menge von Bacterien zu den Plattenculturen verwendet worden war. Trotzdem treten die Punkte, auf welche es hauptsächlich ankommt, und die sich in späteren Versuchen bestätigten, schon deutlich in Erscheinung. Auf den Platten, welche aus den 7% kochsalzhaltigen Bouillonculturen 24 Stunden nach Impfung der Bouillon angelegt sind, beobachten wir bei allen 3 Bacterien eine Verminderung der Colonienzahl gegenüber denjenigen Platten, die direct nach Impfung der Bouillon gegossen wurden. Es kann diese Erscheinung nur auf ein theilweises Zugrundegehen von Keimen in der Kochsalzbouillon zurückgeführt werden, das ich in gewöhnlicher Löffler'scher Bouillon nicht beobachtete. In dieser zur Controle mit gleicher Menge Bacterienmaterials angelegte Culturen ergaben nach 24 Stunden bereits eine in's zahllose gehende Vermehrung der Bacterien. Die 48 und 72 Stunden nach Impfung der Kochsalzbouillon gegossenen Platten weisen geringe Schwankungen in der Zahl der Colonien auf, die in dieser ersten Versuchsreihe jedoch zu wenig ausgesprochen sind, um daraus Schlüsse auf eine weitere Verminderung oder Vermehrung der Bacterien in der 7proc. Kochsalzbouillon zu ziehen. Dagegen zeigen die Gelatineplatten vom 4. und 5. Tage bei allen 3 Arten eine erhebliche Vermehrung der Colonienzahl, die sich nun weiterhin in den folgenden 2 Tagen bis in's Zahllose steigert.

Die kräftige Vermehrung der Keime spricht sich auch in einer deutlichen Trübung der Kochsalzbouillon aus; am 12. Tage ist in derselben ein geringer Bodensatz von Bacterienmassen gebildet.

Anders gestalten sich die Resultate bei den Bouillonculturen mit 12 und 15% Kochsalzgehalt. Die 24 Stunden nach Impfung der Kochsalzbouillon angelegten Platten bleiben ausnahmslos steril, die Bacterien haben also während dieser Zeit durch die Einwirkung der Salzlösung ihre Entwicklungsfähigkeit auf Gelatineplatten eingebüsst. Die Platten der nächsten Tage zeigen das gleiche Verhalten, keine Colonie kommt auf.

Zur Controle dieser Resultate wurde sofort eine zweite Versuchsreihe ausgeführt, bei der die Salzculturen gleichfalls bei 22° gehalten wurden. Um sicher nur frisches Bacterienmaterial zu verwenden, schickte ich vor Beginn der Versuche die einschlägigen Bacterien 4 Tage nacheinander durch gewöhnliche Löffler'sche Bouillon, indem ich jedesmal von den 24 Stunden alten Culturen in frische Bouillon überimpfte. In dieser Versuchsreihe wurde eine Bouillon mit 10% Kochsalzgehalt eingeschaltet, um die Grenzen des Concentrationsgrades der Salzlösungen, in denen noch eine Entwicklung der Bacterien statthat, enger zu ziehen. Die Beobachtung dieser wie auch der vorigen Versuchsreihe dehnte sich auf 14 Tage aus.

Tabelle III.

Kochsalzbouillonculturen bei 22 bis 24° C. Davon 23,7 mg zu den Platten. Nach fünftägigem Wachsthum auf Gelatineplatten betrug die Zahl der aufgekommenen Colonien[1]): **1. Bacterium coli.**

Bei Plattenguss	7%	10%	12%	15%
	Na Cl-Gehalt			
Direct nach Impf. d. Kochsalzbouill.	308 (276)	272 (220)	410 (370)	317 (308)
24 Std. » » » »	146 (150)	0 (0)	0	0
48 Std. » » » »	45 (68)	0	0	0
3 Tage » » » »	158	0	—	—
4 Tage » » » »	356	0	—	—
7 Tage » » » »	zahllos	0	—	—

Trübung der Bouillon von 7% Na Cl-Gehalt am 5. Tage. Die 10 resp. 12 und 15proc. Kochsalzbouillon blieb klar.

1) Die eingeklammerten Zahlen sind Ergebnisse von Platten, die mit einer Platindrahtspirale von 10,3 mg Fassungsvermögen beschickt wurden; die Zahlen sind aber auf 23,7 mg berechnet.

2. Bacillus morbificans bovis.

Bei Plattenguss	7%	10%	12%	15%
	Na Cl-Gehalt			
Direct nach Impf. d. Kochsalzbouill.	289 (229)	430 (380)	314 (231)	377 (294)
24 Std. » » » »	62 (44)	0 (0)	0	0
48 Std. » » » »	45 (29)	0	—	—
3 Tage » » » »	2782	0	—	—
5 Tage » » » »	5786	0	—	—
7 Tage » » » »	zahllos	0	—	—

Trübung der Bouilloncultur von 7% NaCl-Gehalt am 6. Tage. Die übrigen Culturröhrchen blieben klar.

3. Bacillus enteritidis.

Bei Plattenguss	7%	10%	12%	15%
	Na Cl-Gehalt			
Direct nach Impf. d. Kochsalzbouill.	159 (110)	282 (157)	176	—
24 Std. » » » »	51 (38)	0	0	—
48 Std. » » » »	— (14)	0	—	—
3 Tage » » » »	15 (11)	0	—	—
4 Tage » » » »	310 (246)	0	—	—
6 Tage » » » »	10158	0	—	—
8 Tage » » » »	zahllos	0	—	—

Trübung der Bouilloncultur von 7% NaCl-Gehalt am 6. Tage bemerkbar. Die 10 und 12proc. Kochsalzbouillon blieb steril.

Die Resultate der Tabellen II und III sind danach fast die gleichen, nur treten sie infolge der grösseren Zahlen, mit denen man rechnen konnte, in der III. Tabelle viel klarer hervor. Wieder begegnen wir in der 7proc. Kochsalzlösung am 1. Tage nach der Impfung einer erheblichen Verminderung in der Colonienzahl, die am 2. Tage und beim Bacillus enteritidis noch während des 3. Tages fortschreitet. Dann tritt mit dem Ende des 3. oder 4. Tages eine anfangs langsam, vom 6. Tage an jedoch rapid ansteigende Vermehrung auf, die sich in der ungeheuren Zahl von Colonien auf den Gelatineplatten und ausserdem durch die Trübung der Kochsalzbouillon kundgibt.

Demgegenüber bleiben die Bouillonculturen von 10, 12 und 15% Kochsalzgehalt bis zum Abschluss des Versuches klar, die Platten zeigen schon 24 Stunden nach der Impfung keine Colonie.

Welche Schlüsse dürfen wir aus den Zahlenreihen der Tabellen ziehen? In der 7 proc. Kochsalzbouillon greift zunächst eine entschiedene Verminderung der Bacterienzahl Platz; dieselbe ist so erheblich und währt eine so beträchtliche Zeit lang (3 Tage), dass wir sie unmöglich allein der Uebertragung der Bacterien von einem Nährboden auf einen anderen zur Last legen können. Eine derartig kräftig und anhaltend wirkende Schädigung kann hier nur durch den Gehalt des Nährbodens an Kochsalz bedingt sein. Auffallend ist dabei die Thatsache, dass die Bacterien nur zum Theil derart geschädigt werden, dass sie sich nicht mehr auf dem gewöhnlichen Nährmaterial zu erholen und zu entwickeln vermögen, während ein anderer Theil die Entwicklungsfähigkeit bewahrt. Nachdem die letzteren sich in dem kochsalzhaltigen Nährboden gewissermaassen »acclimatisirt« haben, so treten auch in diesem ihre Lebensäusserungen wieder in Kraft, die Zellen vermehren sich. Jedoch auch dieser Process ist in der 7 proc. Kochsalzbouillon gegenüber dem Verhalten in den gewöhnlichen Nährmedien entschieden verzögert; das besagen die langsam ansteigenden Zahlen der auf den Gelatineplatten aufgekommenen Colonien.

In beiden Versuchsreihen blieb in den Salzlösungen von 10% Kochsalzgehalt und darüber jegliche Entwicklung der Bacterien aus, ja, bereits nach 24 Stunden vermochten die Bacterien auf dem Gelatinenährboden sich nicht mehr zu vermehren. Ob wir daraus den Schluss ziehen dürfen, dass dieselben durch die Einwirkung der Kochsalzbouillon völlig abgetödtet wurden, will ich noch an anderer Stelle erörtern. Jedenfalls schienen mir diese unerwarteten Resultate zur Zeit der Ausführung dieser Versuche nicht mit der Erfahrung vereinbar, dass die gleichen Bacterien in concentrirten Salzlösungen noch nach Wochen am Leben gefunden werden. Gelegentlich der Besprechung der Abtödtungsversuche mit dem Bacillus

morbificans bovis erwähnte ich bereits die Thatsache, dass es bei Beurtheilung der antibacteriellen Wirkung einer chemischen Substanz sehr auf die Zahl der Keime ankommt, welche dieser Wirkung ausgesetzt sind. Wie in den Tabellen II und III die Zahlen der Colonien beweisen, welche auf den direct nach der Impfung der Kochsalzbouillon gegossenen Platten aufkamen, war die Menge der Keime in der Salzbouillon keine grosse — für den günstigsten Fall berechnet, waren in 10 ccm Kochsalzbouillon etwa 172000 Bacterien. Im Gegensatz dazu benutzten wir bei den Versuchen mit concentrirten Salzlösungen ungemein kräftig entwickelte Culturen. Um deshalb sicher zu sein, dass auch bei grosser Keimzahl in den 10- und mehrprocentigen Kochsalzlösungen keine Entwicklung der Bacterien stattfand, brachte ich in die betreffenden Salzlösungen aus 24 stündigen Bouillonculturen, die unzählig viele Individuen enthielten, mittels grosser Platinspiralen so viel Material ein, dass in der Kochsalzbouillon eine leichte Trübung bemerkbar war. Nach Verlauf von 14 Tagen hatte sich diese Trübung nicht im mindesten verstärkt, geschweige denn, dass ein Bodensatz von Bacterienmassen vorhanden gewesen wäre; es kann daher mit Sicherheit auf ein Ausbleiben der Entwicklung in Bouillon von 10 und mehr Procent Kochsalzgehalt, bei einer Temperatur von 22°, geschlossen werden.

Um möglichst gute Wachsthumsbedingungen für die Bacterien herzustellen, wiederholte ich die Versuche für alle 3 Bacterienarten mit den gleichen Kochsalzlösungen, bewahrte dieselben aber während der Versuchszeit bei einer Temperatur von ungefähr 37° C. auf. Die dabei erzielten Resultate sind im Allgemeinen die gleichen, wie von den bei 22° gehaltenen Culturen; im Einzelnen spielen jedoch bei diesen Versuchsreihen ganz interessante Erscheinungen mit, auf deren Auftreten ich anfangs nicht gefasst gewesen war.

Tabelle IV.

Kochsalzbouillonculturen bei 34 bis 37° C. Davon 23,7 mg zu den Platten. Nach fünftägigem Wachsthum auf Gelatineplatten betrug die Zahl der aufgekommenen Colonien[1]):

1. Bacterium coli.

Bei Plattenguss	7%	10%	12%	15%
	Na Cl-Gehalt			
Direct nach Impf. d. Kochsalzbouill.	413 (362)	387 (393)	402 (312)	583 (443)
24 Std. » » » »	130 (81)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
48 Std. » » » »	0 (0)	0	0	0
3 Tage » » » »	0 (0)	0	0	0
6 Tage » » » »	0	0	0	0
11 Tage » » » »	0	0	0	0

Keine Trübung der Bouillonculturen.

2. Bacillus morbificans bovis.

Bei Plattenguss	7%	10%	12%	15%
	Na Cl-Gehalt			
Direct nach Impf. d. Kochsalzbouill.	310 (232)	332 (291)	350 (305)	216 (186)
24 Std. » » » »	135 (92)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
48 Std. » » » »	0 (0)	0	0	0
3 Tage » » » »	0 (0)	0	0	—
6 Tage » » » »	0	0	0	—
11 Tage » » » »	0	0	0	—

Keine Trübung der Bouillonculturen.

3. Bacillus enteritidis.

Bei Plattenguss	7%	10%	12%	15%
	Na Cl-Gehalt			
Direct nach Impf. d. Kochsalzbouill.	389 (227)	70 (61)	127 (96)	260 (246)
24 Std. » » » »	104 (—)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
48 Std. » » » »	70 (58)	0	0	0
4 Tage » » » »	14 628	0	0	—
6 Tage » » » »	zahllos	0	0	—

Am 4. Tage beginnende Trübung der Bouillon von 7% Na Cl-Gehalt. Die 10, 12 und 15proc. Kochsalzbouillon blieb klar.

---

1) Siehe die Anmerkung bei Tabelle III.

Betrachten wir zunächst die Resultate dieser Tabelle, deren Salzculturen, ausgenommen die Temperatur des Aufbewahrungsortes, unter den gleichen Verhältnissen und mit denselben Mengen von Bacterienmaterial angelegt wurden, wie die Culturen der vorigen Versuchsreihe (Tabelle III). Die von der 24 Stunden alten Bouillon mit 7% NaCl-Gehalt angelegten Platten weisen, wie dort, eine beträchtliche Verminderung in der Zahl der Colonien auf; nach 48 Stunden gegossene Platten von den mit Bacterium coli und Bacillus morbificans geimpften 7 proc. Salzculturen bleiben dagegen auffallenderweise steril, desgleichen die nach 3, 6 u. s. w. Tagen angefertigten Platten. Demgegenüber zeigt der Bacillus enteritidis fast dasselbe Verhalten wie in der Tabelle III, nur mit dem Unterschiede, dass die Zahl der Colonien vom 4. Tage ab — eine Beobachtung vom 3. Tage fehlt leider — sehr rapide zunimmt. Letztere Erscheinung ist wohl damit zu erklären, dass nach Ueberwindung der Schädigung durch das Kochsalz die Bedingungen für die Entwicklung der Bacterien durch die höhere Temperatur eben die bestmöglichsten, jedenfalls bessere sind als bei 22°.

Diese Resultate forderten zu einer sofortigen Controlprüfung unter denselben Temperaturverhältnissen auf, die ich nunmehr mit Uebertragung bedeutend grösserer Mengen Bacterienmaterials in die Kochsalzbouillon ausführte.

Tabelle V.

Kochsalzbouillon, geimpft aus 24stündiger gewöhnlicher Bouilloncultur mit zwei Platindrahtspiralen von je 23,7 mg Inhalt, bei 37° gehalten:

Name des Bacterium	Beginnende Trübung der Bouillon von	
	7% NaCl-Gehalt	10% NaCl-Gehalt
Bacterium coli commune . .	am 3. Tage	keine Trübung
Bacillus morbificans bovis . .	am 3. Tage	keine Trübung
Bacillus enteritidis	am Ende d. 3. Tages	keine Trübung

Eine durch Zahlen belegte Controle der Entwicklung der Bacterien unterblieb bei dieser Versuchsreihe, dagegen wurden zur Vergewisserung, dass keine Verunreinigung in den Salzculturen entstanden war, täglich Gelatinestriche angefertigt.

Dieselben bewiesen sämmtlich, diesmal bei allen drei Bacterienarten die Anwesenheit der betreffenden lebenden Keime in der Salzbouillon auch über den zweiten Tag hinaus. Ja bereits im Verlaufe des dritten Tages nach Impfung der Salzbouillonröhrchen trat bei denen von 7 % Kochsalzgehalt eine leichte Trübung auf, die in den nächsten Tagen zunahm und fast dasselbe Verhalten wie in normalen Nährmedien zeigte. Die 10 % kochsalzhaltenden Bouillonröhrchen blieben auch hier wieder klar.

Zur endgültigen Bestätigung dieser Resultate wurde mit der 7 proc. Kochsalzbouillon eine in Tabelle VI dargestellte Versuchsreihe durchgeführt, bei der, um mit möglichst grossen, aber doch noch einigermaassen gut zu controlirenden Zahlen zu arbeiten, eine Platinspirale von 67,3 mg Inhalt aus einer 24-stündigen Bouilloncultur jeder Bacterienart direct ohne Verdünnung in die Kochsalzbouillon überbracht wurde.

Tabelle VI.

Bouillonculturen mit 7 % Kochsalzgehalt bei 37° C. Nach fünftägigem Wachsthum auf Gelatineplatten betrug die Zahl der aufgekommenen Colonien [1]):

Bei Plattenguss	Bact. coli	Bac. morbificans	Bac. enteritidis
Direct nach Impfung d. Kochsalzbouillon	8 164	12 216	11 820
24 Std. » » » »	2 756	4 687	3 921
3 Tage » » » »	12 050	10 744	8 756
4 Tage » » » »	zahllos	zahllos	zahllos

Die nach 24 Stunden angelegten Platten weisen wieder eine ganz beträchtliche Verminderung in der Zahl der Colonien auf, dagegen beginnt mit dem 3. Tage bereits eine Vermehrung der Bacterien; die vier Tage nach Impfung der Salzbouillon gegossenen Platten sind mit zahllosen Colonien bedeckt, die Salzbouillon selbst zeigt starke Trübung. Die Entwickelung ging also, wie bereits vorhin bemerkt, auch hier bei Bruttemperatur sehr schnell vor sich, nachdem die Bacterien einmal

1) Die Ueberimpfungen von der Kochsalzbouillon in die Gelatine wurden mit einer Spirale von 10,3 mg Inhalt ausgeführt.

einen gewissen kritischen Punkt der Schädigung durch das Kochsalz überwunden und sich in der Salzlösung »acclimatisirt« hatten.

Es fragt sich nun, worauf die Ungleichheit der Resultate mit der 7 proc. Kochsalzbouillon in der Tabelle IV gegenüber den Tabellen III, V und VI beruht. Bestimmte Erklärungen dafür zu geben, ist mir nicht möglich; ich will jedoch versuchen, aus entsprechenden Beobachtungen bei anderen Bacterien und für andere Substanzen als das Kochsalz Schlussfolgerungen zu ziehen, welche die Ergebnisse meiner Untersuchungen nicht allzu befremdend erscheinen lassen.

Zur Begründung des verschiedenen Ausfalls der Resultate in den Tabellen III und IV, bei denen die Versuche mit gleichen Bacterienmengen, aber unter verschiedenen Temperaturverhältnissen ausgeführt wurden, möchte ich eine Thatsache anführen, die für unsere Desinfectionsmittel durch zahlreiche Untersuchungen als feststehend erwiesen worden ist: der Wirkungswerth derselben ist nämlich im Allgemeinen um so grösser, je concentrirter ihre Lösung und je höher die Temperatur der Lösung ist. Wenn wir nun auch das Kochsalz nicht zu den Desinfectionsmitteln rechnen dürfen, so verhält es sich, wie auch unsere Versuche beweisen, den Bacterien gegenüber keineswegs ganz indifferent. Wodurch das Kochsalz für die Bacterien schädigend wirkt, ob durch die sicher in schwachen Salzlösungen bereits eintretende Plasmolyse[1]) oder, wie Römer[2]) für Milzbrandsporen annehmen zu können glaubt, durch eine Quellung und Auflockerung der Sporenmembran, die dadurch dem auf osmotischem Wege vor sich gehenden Eindringen chemischer Stoffe weniger Widerstand entgegenzusetzen vermag, darüber will ich mich hier nicht weiter verbreiten, zumal sichere Beweise in dieser Frage bisher nicht erbracht sind.

Für die Deutung der sich in den Tabellen IV und VI ergebenden Verschiedenheiten der Resultate bei der 7 proc.

1) A. Fischer, Die Plasmolyse der Bacterien. Verhandlungen d. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. mathem.-phys. Kl., 1891.

2) Münchner medicin. Wochenschr., 1898, Nr. 10.

Kochsalzlösung führe ich den gleichen Grund an, den ich bereits für das Ausbleiben einer Entwicklung in den 10- und mehrprocenthaltigen Kochsalzlösungen der Tabellen II und III in Betracht ziehen zu müssen glaubte: die verhältnissmässig geringe Menge des Bacterienmaterials, welches der Einwirkung des Kochsalzes ausgesetzt wurde. Es ist doch wohl anzunehmen, dass es unter den Bacterien gerade so wie unter allen anderen Lebewesen kräftigere und schwächere Individuen gibt, die sich also äusseren Einflüssen gegenüber mehr oder minder widerstandsfähig erweisen. Darauf ist wohl in unseren Versuchen mit der 7 proc. Kochsalzbouillon, wie ich bereits andeutete, die Erscheinung zurückzuführen, dass ein Theil der Bacterien zu Grunde geht, während ein anderer die Schädigung zu überwinden und sich weiter zu vermehren vermag. Ist die Anzahl der beim Versuche benutzten Bacterien nun eine sehr grosse, wie es z. B. bei unseren Abtödtungsversuchen der Fall war, bei welchen wir üppig entwickelte Culturmassen anwendeten, so werden natürlich um so mehr Individuen darunter sein, die sich schädigenden Einwirkungen gegenüber resistent zeigen und, unter günstige Existenzbedingungen zurückgebracht, sich fortzupflanzen vermögen. Versetzen wir dagegen relativ wenig Bacterien in Verhältnisse, die eine Vermehrung der Zahl nicht gestatten (Kochsalzlösungen von 10% und darüber), so wird die Chance, bei den Ueberimpfungen gerade eines der in der Minderzahl vorhandenen kräftigen Individuen auf zusagenden Nährboden zu überbringen, nur äusserst gering, wenn nicht gleich null sein. Ausserdem ist dann noch der Factor in Betracht zu ziehen, ob das betreffende, in der starken Salzlösung vielleicht noch lebende Bacterium die Fähigkeit hat, sich auf dem neuen Nährboden zu vermehren, da andernfalls ja jede Erkennung eines positiven Ausfalls des Impfresultats für uns ausgeschlossen ist. Im früheren Amsterdamer Laboratorium des Herrn Prof. Forster hat Basenau[1]) diese Erscheinung

1) F. Basenau, Ueber das Verhalten der Cholerabacillen in roher Milch. Arch. f. Hyg., Bd. XXIII, 2, 1895.

bei Cholerabacterien festgestellt, deren Verhalten in Milch er zur Nachprüfung auffallender, von Hesse angegebener Resultate untersuchte. Wurden aus Milch, die mit Cholerabacterien geimpft und sauer geworden war, zum Nachweis der Lebensfähigkeit der Vibrionen Ueberimpfungen auf Agarplatten gemacht, so kam keine Colonie auf. Wurde dagegen eine geringe Menge der Choleramilch in die für Cholerabacillen günstige Koch'sche Anreicherungsbouillon gegeben, so war ein kräftiges Wachsthum der Bacillen zu beobachten; es waren also in der Milch entschieden Keime am Leben gewesen, die sich unter günstigen Existenzbedingungen lebens- und entwicklungsfähig zeigten.

Gerade so verhält es sich mit der Kälte. Nach den Erfahrungen Prof. Forster's bei den Choleravorkommnissen in Amsterdam im Winter der Jahre 1892 bis 95 gelang es mehreremale nicht, mit der Gelatineplattenmethode aus Choleradejectionen, die der Winterkälte ausgesetzt waren und der mikroskopischen Untersuchung nach reichlich Kommabacillen enhielten, Colonien auf der Platte zu erhalten, während die Anreicherungscultur ein, wenn auch etwas verlangsamtes Wachsthum zeigte. Aus Culturen der Cholerabacterien, welche Herr Bleekrode in Prof. Forster's Laboratorium in Amsterdam über 3 Monate bei einer Temperatur von 0° gehalten hatte, gelang es nach wenigen Tagen kaum und verspätet, nach einigen Wochen auch mit grösseren Mengen der Culturen nicht, auf der Gelatineplatte eine Colonienentwicklung zu erhalten. Wurden dagegen mehrere Spiralen voll von der bei niederer Temperatur gehaltenen Cultur in die alkalische Peptonkochsalzlösung gebracht, so konnte man nach einiger Zeit ein üppiges Wachsthum der Cholerabacterien beobachten. Gleich verhalten sich dieselben Bacterien, wenn sie kürzere Zeit bei Temperaturen von 10 bis 16° unter Null gehalten werden.

Mit der Anführung dieser Beobachtungen bei Cholerabacillen habe ich bezweckt, eine Erklärung für das Verhalten unserer Bacterien in 10 und mehrprocentiger Kochsalzlösung zu suchen. Dass geschwächte Individuen unserer Coliarten auf Gelatine sich nicht mehr zu entwickeln vermögen, scheint mir nach den obigen

Auseinandersetzungen sehr wohl möglich zu sein. Freilich konnte ich auch bei Ueberbringung von 10 ccm einer 8proc. Kochsalzbouillon, die mit grossen Mengen Coli geimpft war, in 500 ccm Löffler'scher Bouillon keine Entwickelung von Bacterien constatiren, nachdem bereits 3 Tage vorher auf der Gelatineplatte keine Colonie mehr aufgekommen war. Ein besonderes electives Nährmedium für diese Bacterien, welches mit der Anreicherungsbouillon für die Cholerabacillen verglichen werden könnte, ist uns jedoch bis heute unbekannt. Weitere Beobachtungen habe ich unterlassen, da die Lösung dieser Frage nur indirect zu unseren Versuchen in Beziehung steht.

Zwei letzte Versuchsreihen endlich wurden zu dem Zwecke ausgeführt, die Grenzen des Concentrationsgrades der Salzlösung, in welcher noch eine Entwickelung der Bacterien vor sich geht, möglichst genau festzulegen. Ich stellte mir daher eine Bouillon mit 8% Kochsalzgehalt her und brachte diesmal, wie in der vorigen Versuchsreihe, mittels einer Spirale von 67,3 mg Inhalt reichliche Mengen von Keimen in die Kochsalzbouillon.

Tabelle VII.

Bouillonculturen mit 8% Kochsalzgehalt. Davon 10,3 mg zu den Platten. Nach fünftägigem Wachsthum auf Gelatineplatten betrug die Zahl der aufgekommenen Colonien:

Bei 22° C.

Bei Plattenguss	Bact. coli	Bac. morbificans	Bac. enteritidis
Direct nach Impfung d. Kochsalzbouillon	13 416	18 519	17 512
24 Std. » » » »	1 911	1 716	1 482
48 Std. » » » »	305	366	192
3 Tage » » » »	297	871	103
4 Tage » » » »	188	975	44
6 Tage » » » »	40	3 164	28
8 Tage » » » »	4	11 921	11
9 Tage » » » »	0	ca. 25 000	0
10 Tage » » » »	0	zahllos	0

Bei 37° C.

Bei Plattenguss	Bact. coli	Bac. morbificans	Bac. enteritidis
Direct nach Impfung d. Kochsalzbouillon	13 403	20 410	10 817
24 Std. » » » »	635	474	107
48 Std. » » » »	67	87	15
3 Tage » » » »	5	3 770	1
4 Tage » » » »	0	5 197	0
6 Tage » » » »	0	27 900	0
8 Tage » » » »	0	zahllos	0

Bei allen drei Bacterienarten nimmt die Zahl der auf den Platten erscheinenden Colonien, wie die Tabellen zeigen, am 1. Tage nach der Impfung der Kochsalzbouillon sehr bedeutend ab. Doch tritt zwischen dem Verhalten der bei 22° und bei 37° gehaltenen Salzculturen schon jetzt ein auffallender Unterschied auf, den ich auf die vorhin bereits erwähnte grössere »chemische Activität« der Kochsalzlösung bei höheren Temperaturen zurückführe[1]). Diese Unterschiede in der Zahl der Colonien lassen sich durch beide Versuchsreihen hindurch beim Bacterium coli und dem Baeillus enteritidis gleichmässig weiter verfolgen. Aus den bei 37° gehaltenen Culturen bleiben die am 4. Tage nach der Impfung gegossenen Platten bereits steril, desgleichen die der späteren Tage, während die Colonienzahlen aus den bei 22° bewahrten Salzculturen ganz allmählich sinken und erst am 9. Tage den Nullpunkt erreichen.

Anders liegen die Verhältnisse beim Morbificans. Hier steigt nach der anfänglichen, auch bei den anderen Bacterien beobachteten, beträchtlichen Verminderung vom 3. Tage ab die Zahl der Colonien aus der bei 37° gehaltenen Salzcultur ganz erheblich und hat bereits am 6. Tage eine an's Zahllose grenzende Höhe erreicht. Demgegenüber schreitet die Steigerung in der Colonienzahl auf den Platten, die aus der bei 22° bewahrten

1) Behring, Desinfection, Desinfectionsmittel und Desinfectionsmethoden. Zeitschr. f. Hyg., Bd. IX, 1890, S. 404.

Salzlösung stammen, nach voraufgehender Verminderung vom 4. Tage ab ganz allmählich fort und hat erst mit dem 6. Tage ungefähr die Höhe erreicht, welche die Platten aus der Cultur bei 37° bereits 3 Tage nach der Impfung zeigen.

Fassen wir die bei den bisher geprüften Bacterien erzielten Resultate zusammen, so ergibt sich für alle drei Arten gemeinsam ein Zustand von vorübergehender Entwickelungshemmung mit nachfolgender Vermehrung in der Bouillon von 7% Kochsalzgehalt, eine völlige Entwickelungshemmung und Aufhören jeglichen Wachsthums in Bouillon von 10% Kochsalzgehalt und darüber. Während aber der Morbificans bovis in einer 8proc. Kochsalzlösung nach vorübergehender Wachsthumshemmung seine Lebens- und Entwickelungsfähigkeit noch nicht einbüsst, bewirkt die gleiche Salzlösung beim Bacterium coli und Bacillus enteritidis bereits totale Entwickelungshemmung. Die Grenze der Entwickelungsfähigkeit in Kochsalzlösungen liegt also nach unseren Versuchen für das Bacterium coli und den Bacillus enteritidis zwischen 7 und 8%, für den Bacillus morbificans bovis zwischen 8 und 10% Kochsalzgehalt des Nährbodens[1]).

1) Aehnliche Resultate wie für das Bact. coli und den Bac. enteritidis erhielt ich auch für den Typhusbacillus. Ich gebe hier Tabellen, die nach den bisherigen Ausführungen ja leicht verständlich sind.

Tabelle A.

Kochsalzbouillonculturen bei 22° C. Nach fünftägigem Wachsthum auf Gelatineplatten betrug die Zahl der aufgekommenen Colonien:

Bei Plattenguss	7%	8%	10%	12%	15%
	NaCl-Gehalt				
Direct nach Impfung d. Kochsalzbouillon	3812	2501	2140	4263	—
24 Std. » » » »	139	11	0	0	—
48 Std. » » » »	67	0	0	0	—
3 Tage » » » »	1	0	-	—	—
4 Tage » » » »	8	—	0	—	—
5 Tage » » » »	16		—	—	—
6 Tage » » » »	48	0	—	—	—
8 Tage » » » »	675	—	—	—	—

Für den **Proteus vulgaris** musste wegen seiner Eigenschaft, die Gelatine zu verflüssigen, eine andere Versuchsmethode als bei den übrigen Bacterien angewendet werden, um sein Verhalten in Kochsalzlösungen zu demonstriren. Herr Prof. **Forster** gab mir eine Methode an, mittels welcher annähernde Resultate über die Entwickelungsverhältnisse des Proteus sehr wohl zu erlangen sind.

Ausgehend von der von Prof. **Forster** durch Versuch und Berechnung erlangten Kenntnis, dass aus einer 24stündigen, bei

---

Die fortschreitende Vermehrung der Bacterien wurde für den 9. und 10. Tag durch eine späterhin beim Proteus beschriebene Zählmethode festgestellt.

Tabelle B.

Kochsalzbouillonculturen bei 37° C. Nach fünftägigem Wachsthum auf Gelatineplatten betrug die Zahl der aufgekommenen Colonien:

Bei Plattenguss	7%	8%	10%	12%
	Na Cl-Gehalt			
Direct nach Impfung d. Kochsalzbouillon	4030	4942	1987	3562
24 Std. » » » »	96	5	0	0
48 Std. » » » »	32	0	0	0
3 Tage » » » »	25	0	—	—
4 Tage » » » »	47	—	—	—
6 Tage » » » »	3512	—	—	—
8 Tage » » » »	zahllos	—	—	—

Als Hauptunterschied gegenüber den anderen Bacterien fand ich beim Typhusbacillus eine bedeutend ausgedehntere Entwickelungshemmung in den 7proc. Kochsalzculturen. Nach Vorübergehen dieser bleiben die Typhusbacterien auch in der Geschwindigkeit, mit der sie sich alsdann in der Salzbouillon vermehren, erheblich hinter den anderen Bacterien zurück. Mir fiel im allgemeinen auch in gewöhnlicher Löffler'scher Bouillon auf, dass von 24stündigen Bouillonculturen sämmtlicher beobachteter Bacterien die des Typhus stets die geringste Trübung zeigte, dass die Entwickelung also langsamer bei ihm fortschritt als beim Bact. coli, Bac. morbificans und Bac. enteritidis.

Das Schlussergebnis ist für den Typhusbacillus das gleiche wie für Coli und Enteritidis: in 7proc. Kochsalzbouillon tritt nach vorübergehender Entwickelungshemmung eine allmähliche Vermehrung der Keime ein, in 8proc. Kochsalzbouillon ist dagegen die Entwickelungsfähigkeit bereits völlig vernichtet, die Grenze derselben liegt für den Typhusbacillus also bei einem Salzgehalt des Nährsubstrats zwischen 7 und 8%.

37° gewachsenen Proteusbouilloncultur mittels einer Oese von 1,5 mg Inhalt ungefähr 3 Millionen Bacterien entnommen werden, schaffte ich mir durch mehrmaliges Uebertragen in physiologische Kochsalzlösung eine derartig verdünnte Bacterienanschwemmung, dass ich mit einer Platinspirale von 10,3 mg Inhalt aus der 7 und der 10proc. Kochsalzbouillon ungefähr zehn Bacterien in 10 ccm Löffler'sche Bouillon bringen konnte. Nach mehrfachen Variationen in der Verdünnungsweise der Culturen gelang es mir schliesslich, ein Maass der Verdünnung zu ermitteln, bei dessen Anwendung Löffler'sche Bouillon, die mit einer Spirale von 10,3 mg Inhalt aus der Kochsalzlösung geimpft war, sich trübte, während zwei andere Bouillonröhrchen, die aus derselben Kochsalzlösung, aber nur mit einer Oese von 1,5 mg, bzw. einem Platinhäkchen von 0,2 mg Inhalt beschickt waren, steril blieben. In 0,2 und selbst in 1,5 mg war daher kein Bacterienindividuum mehr vorhanden, wohl aber in der Menge von 10,3 mg. 24 Stunden nach Impfung der Kochsalzbouillon mit Proteus führte ich in gleicher Weise Ueberimpfungen aus derselben in Löffler'sche Bouillon aus. Diesmal blieben alle drei Röhrchen, auch das mit der Spirale von 10,3 mg geimpfte, steril, woraus ich den Schluss ziehen konnte, dass innerhalb der ersten 24 Stunden eine Verminderung des Bacteriengehaltes in der 7 und der 10proc. Kochsalzlösung um mindestens das Zehnfache eingetreten war. Die 48 Stunden nach der Impfung der 7proc. Salzlösung aus dieser beschickten Bouillonröhrchen trübten sich sämmtlich. Es hatte demnach im Verlaufe des 2. Tages nach der Impfung in der 7proc. Kochsalzbouillon bereits eine Vermehrung der Proteusbacterien im Verhältnisse von 0,2 : 10,3, also um mindestens das Fünfzigfache stattgefunden. Eine spätere Ueberimpfung ergab ebenfalls Trübung sämmtlicher Bouillonröhrchen, was vorauszusehen war, zumal da die 7proc. Kochsalzbouillon selbst schon am 3. Tage nach der Impfung sich zu trüben begann.

Die 10proc. Kochsalzbouillon des Proteus hielt sich bis zum Abschluss der Versuche klar; nach 24 und 48 Stunden aus ihr geimpfte Löffler'sche Bouillon blieb steril.

Ich stelle die Resultate in der folgenden Tabelle zusammen:

Tabelle VIII.

Kochsalzbouilloncultur von Proteus bei 37° C. Löffler'sche Bouillon wird getrübt:

Beim Ueberbringen von:	0,2 mg		1,5 mg		10,3 mg	
In Kochsalzbouillon von:	7%	10%	7%	10%	7%	10%
Direct nach Impfung d. Kochsalzbouillon	0	0	0	0	+	+
24 Std. » » » »	0	0	0	0	0	0
48 Std. » » » »	+	0	+	0	+	0
3 Tage » » » »	+	0	+	0	+	0
4 Tage » » » »	+	0	+	0	+	0

In gleicher Weise angestellte Versuche mit Proteusbouillonculturen von 7% Kochsalzgehalt, die bei 22° gehalten wurden, sowie von 8% Kochsalzgehalt misslangen mir, da ich den gewünschten Verdünnungsgrad trotz mehrfachen Ausprobirens nicht erzielte; ich bekam bereits auch bei der Uebertragung von 0,2 mg Entwickelung. Ich konnte aber feststellen, dass die Bouillonculturen von 8% Kochsalzgehalt sich sowohl bei 22 wie bei 37° im Laufe des 3. Tages nach der Impfung trübten, ein sicheres Zeichen, dass eine Entwickelung des Proteus bei diesem Concentrationsgrade noch gut vor sich ging.

Der Proteus vulgaris erfährt also in 7 und 8proc. Kochsalzlösungen eine vorübergehende Entwickelungshemmung, in 10proc. vermag er sich dagegen nicht mehr zu vermehren.

Ueber die Einwirkung von Kochsalz auf Fäulniserreger im allgemeinen und speciell den Proteus vulgaris existiren bereits einige Angaben in der Literatur. Wehmer[1]) fand, dass »der Proteus vulgaris Hauser bzw. das alte Bacterium thermo F. Cohn« bei einem Salzgehalt des Nährbodens (verdünnte, ungehopfte Würze) von 5% aufwärts nicht mehr zur Entwickelung kam. In

1) Wehmer, Bacteriologie und Chemie der Häringslake. Centralbl. f. Bacteriologie etc., 1897, II. Abth.

Betreff der Verschiedenheiten der Resultate Wehmer's und der meinigen mache ich, abgesehen vielleicht von dem Einflusse der Untersuchungsmethode, dieselben Thatsachen geltend, die ich bereits gelegentlich der Abtödtungsversuche für das Bacterium coli anführte. Es gibt eine ganze Reihe von Proteusbacterien, die sich in ihrem morphologischen und culturellen Verhalten nur wenig von einander unterscheiden, wegen ihrer Beziehungen zur Serumagglutination jedoch als Individuen verschiedener Rassen angesehen werden müssen. Wolf[1]) gelangte bezüglich der Proteusgruppe zu den gleichen Resultaten wie bei den Colibacterien, dass nämlich die Sera von fünf verschiedenen Meerschweinchen nur gegen den Proteusstamm agglutinirten, mit welchem sie vorher geimpft waren.

Die fäulniswidrige Kraft von Kochsalzlaken mit Borsäurezusatz, sowie Bittersalz- und Glaubersalzlaken studirte Boshamer[2]). Er fand aus den Wachsthumsergebnissen der Fäulnisbacterien auf Gelatine- und Agarplatten, sowie in Organstücken die mit den betreffenden Salzlaken längere Zeit hindurch behandelt waren, dass „verdünnte Salzlösungen schon wachsthumshemmend auf die Fäulniserreger wirken, dass dagegen bei längerer Einwirkung von concentrirten Laken eine Abtödtung der Fäulnisbacterien erfolgt«.

Im Anschluss hieran will ich die Resultate erwähnen, die van Ermengem[3]) über das Verhalten des Bacillus botulinus in Kochsalzlösungen angibt. Dieser obligat anaërobe Bacillus war bekanntlich von van Ermengem gelegentlich einer Massenerkrankung in Ellezelles nach Genuss eines Schinkens isolirt und ferner in der Milz eines daran Verstorbenen nachgewiesen worden. Er fand, dass ein Ueberschuss an NaCl im Nährmaterial das Wachsthum des Bacillus botulinus hemmt; »Traubenzuckerbouillon bezw. -Gelatine mit 2% Salz bleiben absolut klar.

1) a. a. O.

2) P. Boshamer, Ueber die fäulniswidrige Kraft concentrirter Salzlösungen. Dissert. Greifswald 1888.

3) van Ermengem, Ueber einen neuen anaëroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus. Zeitschr. f. Hyg., XXVI, 1897.

In Schweinefleisch wird es (das Wachsthum) sehr spärlich, sobald der Gehalt 5% übersteigt und ist gleich Null gegen 6%«. Auf Grund dieser Ergebnisse konnte van Ermengem damals die Ansicht aussprechen, dass der giftige Schinken sich wahrscheinlich in einem Salzwasser von geringerer Concentration als 6% während der Dauer der Pökelzeit befunden hatte. Da ein zweiter, vom selben Thier stammender Schinken, der über dem ersten bereits ausserhalb des Pökelwassers gelegen hatte, nach dem Genuss keine botulinischen Erscheinungen hervorrief, so war daraus der Schluss zu ziehen, dass die pathogenen Bacterien sich erst nach dem Schlachten und während des Pökelns in dem betreffenden Schinken entwickelt hatten. Dadurch, dass der infectiöse Schinken am Boden des Fasses lag und allein in das Salzwasser tauchte, waren nach seiner Meinung auch die Bedingungen für die anaërobe Entwicklung des Bacillus botulinus, und zwar nur in diesem Schinken gegeben.

Fassen wir die Ergebnisse unserer Untersuchungen über die Einwirkung des Kochsalzes auf die Fleischvergiftungsbacterien kurz zusammen, so sehen wir, dass erfolgt:

Tabelle IX.

	Entwickelungshemmung	Abtödtung in conc. Kochsalzlösung
Bacterium coli commune	zwisch. 7 u. 8% NaCl-Geh.	noch nicht nach 6 Wochen
Bac. morbificans bovis .	zwisch. 8 u. 10% NaCl-Geh.	nach 3 Wochen
Bacillus enteritidis . .	zwisch. 7 u. 8% NaCl-Geh.	nach 4½ Wochen
Bacillus proteus vulg. .	zwisch. 8 u. 10% NaCl-Geh	noch nicht nach 3 Wochen
Bacillus botulinus[1]) . .	bei 6% NaCl-Gehalt	—

Für die Praxis des täglichen Lebens können wir aus unseren Versuchen folgern, dass ordnungsgemässes Pökeln dem Fleische während der Dauer des Pökelprocesses einen Schutz gegen von aussen eindringende Bacterien gewährt, da eine Entwicklung solcher in der starken Salzlake ausgeschlossen ist. Weiterhin

1) Nach Angabe van Ermengem's.

wird eine Vermehrung von Bacterien, die sich vor der Procedur bereits an der Oberfläche des Fleisches befanden, durch das Pökeln verhütet. Es mufs aber, wenn man völlige Sicherheit dafür haben will, dass keine Bacterienentwicklung stattfindet, der Kochsalzgehalt der Pökellake 10% sein, da bei einem niedrigeren Procentsatz die Gefahr einer Vermehrung der Keime nicht ausgeschlossen ist. Als ungünstiges Moment für die Entwicklung von Bacterien kommt noch die niedere Temperatur — Eisschrank- oder Keller-, im schlimmsten Falle Zimmertemperatur — in Betracht, bei welcher das Pökeln gewöhnlich vorgenommen wird, doch gewährt dieselbe, wie wir erwähnten, keineswegs völligen Schutz.

Von anderer Bedeutung ist die Wirkung des Pökelns auf Fleisch, das bereits intra vitam Bacterien in sich birgt. Zunächst haben wir im Pökelfleische wie auch in anderen gesalzenen Nahrungsmitteln naturgemäss mit einem bedeutend niedrigeren Kochsalzgehalt zu rechnen als in der Salzlake. Prof. Forster[1]) gibt an, dass gepökeltes Fleisch, welches ungekocht über 6% Kochsalz enthält, bereits unangenehm salzig schmeckt. Ich selbst fand in wohlschmeckendem, rohem Schinken, der nach Angabe des Metzgers fast 3 Wochen in der Pökellake gelegen hatte, einen Salzgehalt von 6,1%. Von Serafini[2]) stammt eine Reihe von Untersuchungen über den Kochsalzgehalt verschiedener Wurstwaren; ich gebe hier einige seiner Angaben wieder: er fand in Frankfurter Bratwurst ungefähr 2% NaCl., in der stark salzig schmeckenden Mailänder Salamiwurst bis zu 8,15%, in Regensburger Wurst ½ bis 1%, in Gothaer Cervelatwurst 5 bis 6% NaCl. Serafini constatirte gleichzeitig das Vorhandensein einer Beziehung zwischen der Höhe des Kochsalzgehaltes und der Haltbarkeit der Wurstwaren. Als Hauptursache für die Conservirung bezeichnet er das Trocknen;

1) J. Forster, Ernährung und Nahrungsmittel. Handbuch d. Hygiene, herausgeg. von Pettenkofer und Ziemssen, I. Thl. 1. Abth., S. 194, 1882.

2) Serafini, Chemisch-bacteriologische Analysen einiger Wurstwaaren. Arch. f. Hyg., Bd. XIII, 1891.

dadurch aber, dass selbst schon ein Kochsalzgehalt des Nährbodens von 5% bei Zimmertemperatur die Entwicklung der Mikroorganismen verzögert, trägt derselbe dazu bei, dass die Wasserentziehung »sich bethätigen kann, bevor das Fleisch verdirbt.« Die starke Wasserentziehung vertragen die vegetativen Formen der Bacterien im Allgemeinen nur kürzere Zeit, sie verlieren dann bald ihre Keimfähigkeit und sterben ab, wie z. B. die gegen das Salzen und Schnellräuchern wenig empfindlichen Tuberkelbacillen, welche bei wiederholtem Räuchern des Fleisches oder dessen Bewahren in trockenen Räumen zu Grunde gehen[1]).

Von anderen salzhaltigen »Nahrungsmitteln« kommt noch der Caviar in Betracht, dessen Kochsalzgehalt Niebel[2]) für Astrachancaviar auf 6,15%, für den minderwerthigen Elbcaviar bis zu 11,4%, Prof. Forster nach seinen mir gemachten Mittheilungen für verschiedene Sorten auf 7 bis 8% bestimmten. Zur Zeit der Choleraepidemien in Russland und im Elbgebiete untersuchte C. Fränkel[3]) das Verhalten der bekanntlich gegen Kochsalz sehr empfindlichen Cholerabacillen im Caviar. Er konnte »zur Beruhigung« der — übrigens doch wohl nicht allzusehr den Gefahren der Cholera ausgesetzten — Caviarfreunde als Ergebnis seiner Versuche mittheilen, dass die Kommabacillen selbst in grossen Mengen auf Caviar gebracht, dessen Salzgehalt er nicht angab, im Verlaufe von 48 Stunden abgestorben waren. Ob Versuche mit dem besseren, grosskörnigen, weniger salzhaltigen Astrachancaviar das gleiche Resultat liefern, dürfte nach den Erfahrungen de Freytag's über die Entwicklungsfähigkeit der Cholerabacillen in Salzlösungen ungewiss sein.

Für die von uns geprüften, bei den sog. Fleischvergiftungen gefundenen Bacterien steht es jedenfalls fest, dass sie, wenn bereits intra vitam im Muskel vorhanden, unter keinen Umständen durch den Pökelprocess abgetödtet werden, dass viel-

1) Forster, Deutsche medic. Wochenschr., 1898. Vereinsbeilage Nr. 8.

2) Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. November 1893.

3) Hygienische Rundschau, II. Jahrg., Nr. 22, 1893.

mehr bei dem geringen Kochsalzgehalte der meisten Pökelwaaren eine Vermehrung der Keime selbst während der Dauer des Pökelns immer noch stattfinden kann.

Vom sanitären Standpunkte aus kommt neben der Gesundheitsschädigung, welche durch Infection mit bacterienhaltigem Fleisch hervorgerufen wird, noch eine solche durch Intoxication mit den giftigen Stoffwechselproducten, die bekanntlich einige der hier interessirenden Bacterien erzeugen, in Betracht. In de Freytag's Mittheilungen ist bereits darauf hingewiesen, dass durch die beim Einsalzen sich bildende Salzlake dem Fleische neben anderen in Wasser löslichen Stoffen auch die löslichen organischen Gifte grossentheils entzogen werden, indem sie in die Lake übergehen. Da andererseits unsere Versuche lehren, dass die meisten Mikroorganismen bereits durch einen verhältnismässig geringen Salzgehalt des Nährsubstrats eine Abschwächung erfahren, die sich in der Entwicklungshemmung kundgibt, so erscheint demnach die Gefahr sowohl einer Intoxication als auch einer Infection durch den Genuss abnormalen gesalzenen Fleisches geringer als beim Verbrauch desselben Fleisches in frischem Zustande; beseitigt wird aber insbesondere letztere durch das Pökeln nicht völlig. Will man sie umgehen, so ist im allgemeinen auch das gepökelte Fleisch nicht in rohem Zustande zu geniessen.

Zum Schlusse möchte ich noch die Frage aufwerfen, ob es vielleicht möglich ist, dass Bacterien, deren Entwicklung in verhältnismässig schwachen Salzlösungen bereits gehemmt wird, allmählich an das Kochsalz gewöhnt werden könnten, wie ja z. B. für manche Arten ein Anpassungsvermögen an Temperaturen, die ihnen a priori nicht zusagten, beobachtet worden ist. Ich verfiel auf den Gedanken an eine solche Möglichkeit, im Zusammenhange mit meinen eigenen Beobachtungen durch die Thatsache, dass es eine ganze Reihe von Bacterien gibt, die sich noch bei einem hohen Kochsalzgehalt des Nährbodens nicht nur lange Zeit lebensfähig erhalten, sondern sogar

eine kräftige Entwicklung zeigen. Solche salzliebenden Bacterien und Hefen, die theils in Kochsalzlösungen über 20% noch wachsen. sind auf Anregung von Herrn Prof. Forster durch Herrn Lamberts bereits vor einigen Jahren noch im Amsterdamer hygienischen Institute untersucht worden, ohne dass die Resultate bisher veröffentlicht wären. Wehmer[1]) isolirte aus der Häringslake eine Hefeart, die bei einem Kochsalzgehalte des Nährbodens (verdünnte, ungehopfte Würze) bis zu 15% eine wenn auch verzögert eintretende Entwicklung zeigte. Er zieht aus seinen experimentellen Resultaten die Schlussfolgerung, dass die Möglichkeit einer Vermehrung der betreffenden Salzhefe in der Häringslake selbst, deren Kochsalzgehalt er auf 23 bis 24% bestimmte, keineswegs ausgeschlossen ist; jedenfalls bleibt die Hefe lange Zeit in Lösungen mit 24% NaCl-Gehalt entwicklungsfähig. In Butter mit 10% Kochsalzzusatz, die bei Eisschranktemperatur gehalten wurde, wies Lafar[2]) die Entwicklung eines näher von ihm beschriebenen Bacterium butyri colloideum nach. Schliesslich erwähne ich noch Untersuchungen, die in jüngster Zeit von V. Lachner-Sandoval[3]) im hiesigen hygienisch-bacteriologischen Institute über Strahlenpilze ausgeführt wurden; Lachner fand, dass die Streptothrix albido-flava in Bouillon bei einem Kochsalzgehalt bis zu 6% üppig wächst, »eine grössere Menge Kochsalz wirkt immer ungünstiger, bei 16% ist die Entwicklung nur noch sehr schwach.«

Eine Gewöhnung der gegen Salz empfindlichen Bacterien an dieses wäre, wenn überhaupt, wohl nur durch Züchten auf Nährböden mit allmählich ansteigenden Concentrationen im Salzgehalt zu ermöglichen. In der Praxis wird man es mit solchen Verhältnissen kaum je zu thun haben; dafür spricht namentlich die uralte Erfahrung, dass Pökelfässer im Gegensatz zu Wein- und Bierfässern nach der Benutzung nicht einer so kräftigen Des-

1) a. a. O.

2) Lafar, Bacteriolog. Studien über Butter. Arch. f. Hyg., 1891.

3) V. Lachner-Sandoval, Ueber Strahlenpilze. Dissertat., Strassburg 1898.

infection wie Brennen und Pichen unterzogen werden; sie bergen eben keine an Kochsalz gewöhnten Keime in sich, die in dem in der Salzlake liegenden Fleische sich weiter entwickeln könnten. In der That wird denn auch, wie mir Prof. Forster aus den Versuchen von Lamberts mittheilt, das Innere des Fleisches von eingesalzenen Häringen u. s. w. gewöhnlich steril gefunden.

Die Veränderungen des Spreewassers auf seinem Laufe durch Berlin in bacteriologischer und chemischer Hinsicht.

Von

Marinestabsarzt Dr. **H. Dirksen** und Dr. **Oskar Spitta.**

Assistenten am Institute.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

(Mit einer Karte. Tafel I.)

I. Bacteriologischer Theil.

Unter dem Einflusse der in einen Flusslauf eingeleiteten Abgangswässer von Städten haben sich in manchen Fällen so beträchtliche Verunreinigungen der öffentlichen Wasserläufe herausgestellt, dass auch die toleranteste Ueberwachung sich mit Rücksicht auf das öffentliche Wohl zum Einschreiten gezwungen sah. Freilich geht man vielfach zu weit, wenn man nur die Verunreinigungen durch städtische Abwässer allein als die wichtigsten ansehen will.

Die Nachtheile der Flussverunreinigung machen sich naturgemäss um so eher geltend, je geringer die tägliche Wasserförderung eines Flusses im Vergleich zu der Einwohnerzahl des von ihm durchströmten städtischen Gebietes ist, und in dieser Beziehung lagen die Verhältnisse für Berlin gerade nicht sehr günstig. Die städtische Verwaltung hat daher schon frühzeitig aus den in Paris, London und in anderen Grossstädten aufgetretenen Uebelständen eine Lehre gezogen, und Bedacht genommen, die Abgangswässer erst nach der Rieselung den Flussläufen zu übergeben.

Da die Spree in Berlin, soweit dies technisch möglich ist, von den städtischen Abgängen frei erhalten wird, und da ausserdem die Beschaffenheit ihres Wassers seit 15 Jahren chemisch

und bacteriologisch näher verfolgt wurde, so eignen sich gerade die hiesigen Verhältnisse ausserordentlich gut zur Lösung der hygienisch ungemein wichtigen, bis jetzt aber nicht näher untersuchten Frage, ob es im Bereich der Möglichkeit liegt, die Reinheit eines Flusses zu erhalten, wenn man, den geltenden sanitären Anschauungen gemäss, jede Verunreinigung durch städtische Abgangswässer fernzuhalten sucht.

Die Abwässer Berlins gelangten in früheren Zeiten mehr oder minder vollständig nach der Spree; ähnlich waren die Verhältnisse in den meisten deutschen Städten, ehe das Interesse an der Flussreinhaltung durch die öffentliche Gesundheitspflege geweckt war.

Um zu verstehen, wie sich in Berlin diese allmähliche Abschliessung der Abwässer von der Spree vollzogen hat, muss man sich ein möglichst verständliches Bild der Bodengestaltung Berlins und seiner näheren Umgebung entwerfen.

Die Stadt Berlin liegt, wie Berendt[1]) ausführt, in dem mittleren der drei grossen Thäler, welche in der Einsenkung des norddeutschen Flachlandes zwischen dem mecklenburgisch-pommerisch-preussischen Höhenzuge einerseits und dem Vläming mit seiner östlichen Fortsetzung andererseits sich finden, um dann, in den weiten Moorniederungen des Havellaufes zusammenlaufend, vereint das weite untere Elbthal, d. h. den eigentlichen Urstrom Norddeutschlands zu bilden. Dieses Thal, das »Warschau-Berliner-Thal« ist bei Berlin 3,5—5 km breit und wird im Norden von dem »Barnim« genannten Plateau begrenzt, dessen Rand — wenn wir von den Rüdersdorfer Kalkbergen jenseits des Müggelsees ausgehen — über Schöneiche, Kaulsdorf, Biesdorf, Friedrichsfelde sich hinziehend, in die jetzigen nördlichen Stadttheile eintritt, wo an seinem durch grossartige Abtragungen verflachten steilen Rand ehemals die jetzt nur noch als Stationen

---

1) Die Anstalten der Stadt Berlin für die öffentliche Gesundheitspflege und für den naturwissenschaftlichen Unterricht. Festschrift, dargeboten den Mitgliedern der 59. Versammlung Deutscher Naturforscher und Aerzte von den städtischen Behörden Berlin 1886.

der Ringpferdebahn bekannten Thore des hier endigenden Berlins (Frankfurter, Landsberger, Königs-, Prenzlauer, Schönhauser und Rosenthaler Thor) gelegen waren. Unterbrochen wird dieses Plateau bei Kaulsdorf durch die Wuhle, bei Hohen-Schönhausen durch den sog. Grenzgraben und beim Humboldtshain durch die Panke — diese drei sämmtlich der Spree zuströmend —, dann durch das der Havel zuströmende Hermsdorfer Fliess und endlich durch das breite Havelthal. Die südliche Grenze des Thales wird gebildet von dem »der Teltow« genannten Plateau, dessen von den Müggelbergen (südlich vom Müggelsee) beginnender und sofort von der »wendischen Spree« oder »Dahme« unterbrochener Rand sich weiterhin bei Glienicke, Buschkrug, den Rollbergen bei Rixdorf, der Hasenhaide und dem Kreuzberg und fernerhin bei Wilmersdorf, der Spandauer Spitze (Spandauer Bock) und dann bei Pichelswerder erkennen lässt, wo nun durch die Havel und ihre nach Süden sich anschliessenden seeartigen Erweiterungen eine breite Unterbrechung erfolgt.

Diese breite Thalmulde erhebt sich in ihrer grössten Fläche nur wenig — bis 4 m — über den Wasserspiegel der sie in trägem Laufe durchziehenden Spree und der diese aufnehmenden Havel, deren beider Spiegel nur zwischen 32 und 30,3 m Meereshöhe schwankt. Dagegen steigen die das Thal begrenzenden Hochflächen des Barnim im Norden und des Teltow im Süden sehr schnell zu einer durchschnittlich im Barnim 50 m, im Teltow etwa 47 m betragenden Meereshöhe, zeigen aber nördlich, schon 15 km vom Mittelpunkt der Stadt entfernt, auch Höhen bis zu 72 m und erreichen im Havelberg im Grunewald sogar 96,5 m Meereshöhe. Während aber der Barnim in Berlins Nähe gleichmässig weiter ansteigt, so dass es uns ganz natürlich erscheint, dass die Wasserläufe von dort ihren Weg nach der Spree oder dem Tegeler See der Havel oberhalb Spandaus nehmen, kommt vom Teltow, welcher hinter Steglitz und dem Havelberg sogleich wieder eine Abnahme seiner Höhe erkennen lässt, ausser der Dahme und dem bei Rixdorf vorbeiströmenden Wiesengraben, kein einziger oberirdischer Zufluss in die Spree oder ihre Nebenarme.

Die Spree tritt etwa 12 km oberhalb der Oberbaumbrücke aus dem grossen Müggelsee, an dessen Ufer das Städtchen Friedrichshagen liegt, vereinigt sich dann unterhalb der Stadt Cöpenick mit der wendischen Spree oder Dahme, die ihr etwa die Hälfte ihrer eigenen Wassermenge zuführt, nimmt wenige hundert Meter weiter stromab von rechts die Wuhle auf und strömt dann, ausser an einer ganzen Reihe von Bier- und Kaffeegärten, an den Ortschaften Ober-Schöneweide (rechtes Ufer), Nieder-Schöneweide und Treptow (linkes Ufer) vorbei, von denen besonders Nieder-Schöneweide reich an Fabriken ist. Sie bildet dann gegenüber Treptow, wo sie den Grenzgraben aufnimmt, eine blindsackähnliche grosse Erweiterung, den »Rummelsburger See«, an dessen Ufern die Ortschaften Stralau und Rummelsburg liegen, tritt dann, nachdem sie links den Landwehrcanal abgegeben hat, bei der Oberbaumbrücke in die Stadt ein, und ist nun bis zur »Jannowitzbrücke« mit Fabriken und Abladeplätzen für Spreekähne auf beiden Seiten dicht besetzt. Dicht oberhalb dieser Brücke, auf dem rechten Ufer, befanden sich früher die Stralauer Wasserwerke, die erste 1852 eingerichtete und 1892 aufgegebene Central-Wasserversorgungsanstalt Berlins. Etwa 1400 m unterhalb der Oberbaumbrücke — bei der Schillingsbrücke — gibt die Spree den Luisenstädtischen Canal ab, der sich mit dem Landwehrcanal, der inzwischen den von Rixdorf kommenden Wiesengraben aufgenommen hat, vereinigt und unter dessen Namen in weitem Bogen die südlichen Stadttheile und den Thiergarten durchströmt, um einige 100 m unterhalb der Berliner Weichbildgrenze innerhalb Charlottenburgs wieder in die Spree zu münden. Etwa in der Mitte seiner ganzen Länge befindet sich der Schöneberger Hafen am Hafenplatz. Die Spree macht etwa 1000 m unterhalb der Schillingsbrücke, gleich unterhalb der Jannowitzbrücke eine Biegung nach WSW. und theilt sich. Von den beiden Theilungsarmen der Spree heisst der südliche bis zur Schlossbrücke »Schleusencanal«. Dieser Canal stellte bis 1894 den einzigen Schiffahrtsweg durch das alte Berlin dar und mündet, von der Schlossbrücke an den Namen »Kupfergraben« führend, zwischen Friedrichsbrücke und Ebertsbrücke

in die Spree. Der Hauptlauf der Spree, welcher mit dem Schleusencanal die Schlossinsel bildet, war früher gleich nach der Trennung von jenem durch die Damm-Mühlen (jetzt beseitigt) aufgestaut, doch wird noch jetzt die hier endigende »Oberspree« durch die grosse Mühlendammschleuse und ein Wehr in Spannung erhalten. Die Unterspree fliesst dann unter der Kurfürstenbrücke durch, am Schloss und Dom vorbei, dann unter der Friedrichsbrücke durch und passirt, nun von links wieder den Kupfergraben aufnehmend, die Weidendammer Brücke, unterhalb deren von rechts die Panke sich hineinergiesst. Es folgen dann die Marschall- und die Kronprinzenbrücke, unterhalb deren beiderseits je eine die Spree mehrere 100 m begleitende Quaistrasse beginnt, die am rechten Ufer unterbrochen wird von dem nach Norden abgehenden Spandauer Schiffahrtscanal, der sofort das grosse Becken des Humboldthafens bildet. Dieser Canal bildet weiter nördlich den Nordhafen, in den der nördliche Pankearm mündet und läuft dann an Plötzensee vorbei, in dessen Nähe er den rückläufigen »Verbindungscanal« abgibt, der genau der Mündung des Landwehrcanals gegenüber, in die Spree mündet, nach Westen dem Tegeler See der Havel zu. Unterhalb des Abgangs des Schiffahrtscanals von der Spree befindet sich die Moltkebrücke, und unterhalb derselben folgt nun eine Strecke, auf der das rechte Ufer bis zu der beim Stadtbahnhof Bellevue die Spree kreuzenden Stadtbahnbrücke, von dem kgl. Packhof (steuerfreie Niederlage) und seinen Quaianlagen, dem riesigen Güterbahnhof der Lehrter Eisenbahn mit vielen Abladeplätzen für Kähne und weiterhin dem Fourage-Magazin des Proviantamts eingenommen wird, während links nur noch wenige Häuserviertel, dann der Thiergarten und der Park des Schlosses Bellevue folgen. Unterhalb der Stadtbahn tritt rechts der Stadttheil Moabit mit vielen Fabriken und links das keilförmig in den Thiergarten hineingebaute sog. Hansa-Viertel (Stadttheil 284) heran (s. die anliegende Karte[1]). Einige hundert

1) Die anliegende Karte entspricht dem Zustande des Jahres 1898, deckt sich aber in allen wesentlichen Punkten mit den in der vorliegenden Arbeit geschilderten Verhältnissen.

Meter weiter unten tritt die Spree in das Gebiet der Stadt Charlottenburg ein und passirt, nach Aufnahme des Landwehrcanals von links und des Verbindungscanals von rechts, bei der »Spandauer Spitze« das neue Stauwerk, um von dort an in langsamem Laufe der Havel zuzustreben, in welche sie sich in Spandau ergiesst.

Was die Wassermenge, welche die Spree nach ihrer Vereinigung mit der Dahme führt, angeht, so ergibt sich Folgendes: Directe Wassermessungen stellte im Frühjahr 1876 Baurath Dietrich bei Hochwasser an und kam zu dem Ergebnis, dass die Spree bei ihrem höchsten Stande 162 cbm in der Secunde abführe. Von dem letzteren Betrage werden zugewiesen:

Dem Kupfergraben (Gerinne an den ehem. Werderschen Mühlen)	rund	25	cbm
Dem Landwehrcanal (Freiarche a. d. oberen Schleuse)	»	15	»
Dem Hauptlauf (Damm-Mühlenwehr)	»	121	»

Daher führt die Unterspree bei Hochwasser:

Von den Damm-Mühlen bis zur Einmündung des Kupfergrabens	122	cbm
Von da bis zur Einmündung des Landwehrcanals	147	»
Von da bis Spandau	162	»

»Bei den niedrigsten Wasserständen geht die Wasserführung bis auf 13 cbm in der Secunde zurück; davon gelangen aber nach Berlin nur 8 cbm, weil 3 cbm durch das zur Speisung des Oder-Spree-Canals dienende Pumpwerk bei Neuhaus und 2 cbm durch die städtischen Wasserwerke am Müggelsee vorher abgenommen werden. Jene 8 cbm reichen eben aus, um die in Betracht kommenden vier Schleusen: am Mühlendamm, im Schleusencanal (Kupfergraben) und die beiden an der Spree liegenden Schleusen des Landwehrcanals zu speisen.« Die Wasserführung der Spree ist also ungemein gering, wir erinnern daran, dass die Seine bei Niederwasser 45 Sec.-cbm, die Isar bei München 41, der Rhein bei Lauterburg 46 Sec.-cbm führen. Glücklicherweise sind solche Wasserstände ausserordentlich selten, kommen aber

doch in manchen Jahren vor. 1891 wurden[1]) im März 118,13 cbm, im Mai einmal 70,10, einmal 52,59 cbm gefunden. 1892 stieg die Menge vom Januar bis Ende Februar von 67 cbm auf 129 cbm und ging dann bis zum 1. Juli auf 14,03 cbm herunter und betrug, nach einer Steigerung bis 19,61 cbm, am 14. August wieder 14,87 cbm. Im Jahre 1894 wurde erst am 3. April gemessen und eine Menge von 53,63 cbm festgestellt. Bei mehrfachen Messungen im Sommer desselben Jahres wurden als Minimum 21,87 cbm beobachtet.

Hierbei darf aber ein besonders bei abnorm niedrigen Wasserständen wichtiger Umstand nicht ausser Acht gelassen werden, nämlich, dass ein Theil des bei den eben erwähnten Messungen unterhalb Charlottenburgs mitgemessenen Wassers von den regelmässigen Zuflüssen reinen Wassers stammt, welche sowohl die Spree als ihre Canäle während ihres Laufes durch die Stadt in Gestalt von verbrauchtem Kühlwasser und Condensationswasser (mindestens 0,7 Sec.-cbm) aus allerlei Fabrikbetrieben bekommen, und das mit verschwindend wenigen Ausnahmen nicht aus den öffentlichen Wasserläufen, sondern aus Tiefbrunnen entnommen wird.

Wir wollen nun daran gehen, in aller Kürze nach dem amtlichen Quellenmaterial, die allmähliche Entlastung der Spree von städtischen Abzugswässern durch den fortschreitenden Ausbau des Sielsystems und der Rieselfelder, soweit sie für unsere Frage von Einfluss erscheint, darzustellen. Bezüglich der früheren Abfuhrverhältnisse in Berlin und des allgemeinen Planes der von Hobrecht durchgeführten Berliner Schwemmcanalisation sei auf die Schilderung G. Franks[2]) verwiesen.

Die Lage der Radialsysteme und der Pumpstationen (letztere durch die dicken, schwarzen Punkte angedeutet) ist aus anliegender Karte ersichtlich. Im Jahre 1873 war zuerst der Bau

---

1) Die nachfolgenden Zahlen verdanken wir der Liebenswürdigkeit der Herren von der I. Wasserbau-Inspection.

2) Zeitschr. f. Hygiene u. Infect.-Krankheiten, 3. Bd., 1888.

des Radialsystems III in Angriff genommen worden, im Jahre 1875 der Bau der Radialsysteme I und II und im Jahre 1876 der des Radialsystems IV, und nachdem auch die zur Berieselung bestimmten Güter, im Süden Osdorf-Friederikenhof (für die Systeme I, II, III) im Norden Falkenberg-Bürknersfelde für die Systeme IV und V erworben und aptirt worden waren, konnte bereits 1876 im Radialsystem III, 1878 in den Systemen I und II, 1879 im System IV und 1881 im System V mit dem regelmässigen Betriebe begonnen werden. Ganz fertig ausgebaut waren dieselben allerdings erst einige Jahre später, das letzte (V) erst im Januar 1883. Angeschlossen waren am Ende des Jahres 1882: 10468 Grundstücke und am 31. März 1883: 10549 Grundstücke,

wovon 1307 auf das Radialsystem I,
» 2824 » » » II,
» 2978 » » » III,
» 2897 » » » IV,
und 543 » » » V

entfielen, während besonders im Gebiete der Systeme IV und V ausserdem noch eine grosse Anzahl nicht angeschlossener Grundstücke auf dem Umwege durch die Rinnsteine nach den Strassenleitungen und damit nach den Pumpstationen entwässerte. Die geförderten Wassermengen betrugen nur im System V weniger als 10000 cbm (8000—8800 cbm) pro Tag, bei den übrigen 13200 bis 18141 cbm im Tage. Die Rieselung war anfänglich sehr intensiv, indem für die Systeme I, II und III auf ein Hektar die Dejekte und Hausabwässer von 479 Menschen, für die Systeme IV und V aber von 393 Menschen entfielen. Betrachten wir nun die Entwässerungslinien der beiden Reihen von Rieselgütern, so sehen wir (wie schon oben geschildert), *dass das von den südlichen Rieselgütern abfliessende Wasser infolge der nach Süden gerichteten Neigung des Geländes sich in die Nuthe ergiessen muss, sodass diese Drain-Wässer uns bei der Frage der möglichen Verunreinigung der* **Spree** nicht mehr zu beschäftigen brauchen. Anders liegt die Sache bei den *nördlichen* Riesel-

gütern. Die Vorfluthgräben dieser Reihe von Gütern sind nämlich folgende:

a) Die Wuhle, die sich etwa 500 m unterhalb der Stadt Cöpenick in die Spree ergiesst, für einen Theil des Gutes Falkenberg und die Ahrenfelder Ländereien.

b) Der Hohenschönhausen-Marzahner Grenzgraben, auch Kraatzgraben genannt, welcher auf der Feldmark Falkenberg beginnend, dem Rummelsburger See (6 km) zufliesst, für Falkenberg, Bürknersfelde und die Marzahner Pläne.

Im Jahre 1882 wurden noch im Ganzen 2387,9 ha Landerwerbungen für Rieselzwecke gemacht.

Da erliess plötzlich auf die Klagen der Bewohner der von der Panke durchströmten Ortschaft Pankow und auf ministerielle Anordnung der Regierungspräsident von Potsdam ein Verbot, die neu gekauften Güter zu berieseln, ehe nicht die landespolizeiliche Genehmigung eingeholt sei. Auf die Vorstellungen der Stadtverwaltung, dass die Güter Falkenberg und Bürknersfelde durch die übermässige Belastung mit Rieselwasser zu versumpfen drohten und dadurch ungenügend gereinigtes Drainwasser in die Wuhle und den Grenzgraben und damit in die Oberspree gelangen müsse, setzten die betheiligten Minister eine Ministerialcommission ein, welche mit der Ausführung der chemischen und bacteriologischen Untersuchung der in Frage kommenden Wässer den Professor Dr. Tiemann und Dr. Robert Koch betraute. Es fanden sich bei dieser für die Zeit vom 1. April 1882 bis 31. März 1883 durchgeführten Untersuchung im Cubikcentimeter folgende Mengen entwickelungsfähiger Keime:[1])

I.	Spüljauche aus dem Druckrohr in Falkenberg .	38 000 000	Keime
II.	Mitte des nördlichen Sielgrabens	87 000	»
III.	Südlicher Sielgraben, 20 Schritte oberhalb seiner Mündung in die Wuhle	409 000	»
IV.	Wuhle am Kreuzungspunkt mit der Landstrasse	55 000	»
V.	Grenzgraben beim Austritt aus dem Rieselterrain	210 000	»

1) Bericht der städt. Deputation für die Verwaltung der Canalisationswerke etc. Anlage A.

VI.	Grenzgraben bei seiner Einmündung in den Rummelsburger See	80 000 Keime
VII.	Rummelsburger See, 40 Schritte unterhalb der Mündung des Grenzgrabens	32 000 »
VIII.	Rummelsburger See in der Nähe der Eiswerke	43 000 »
IX.	Spree oberhalb Cöpenick	82 000 »
X.	Spree, 200 Schritte oberhalb der Wuhlemündung	115 000 »
XI.	Wuhle, 200 Schritte oberhalb ihrer Mündung in die Spree	52 000 »
XII.	Spree, 200 Schritte unterhalb der Wuhlemündung	118 000 »
XIII.	Stralauer Wasserwerke vor der Filtration . .	125 000 »
XIV.	Stralauer Wasserwerke nach der Filtration . .	120 »

Diese Zahlen können wir indess nach dem heutigen Stande unseres Wissens über die Vermehrung der Bacterien im Wasser nicht als durchaus zuverlässig ansehen, weil in dem Bericht ausdrücklich angegeben ist, dass die Entnahme dieser 14 Wasserproben am 9. und 11. Januar stattfand, dass die Verarbeitung derselben — nach Aufbewahrung im Keller — aber erst am 12. Januar in Angriff genommen wurde.

Als Erklärung für die auffallend hohen Zahlen, die in dem Spreewasser bei Bellevue, Charlottenburg und Spandau erhalten wurden, wird in dem Bericht eine vorübergehende Trübung des Wassers und Aufwühlen des Grundschlammes durch Dampfschiffe oder andere Fahrzeuge vermuthet.

Aus diesen Zahlen, die vermittelst der gerade damals von Koch angegebenen 10proc. Gelatine-Platten gewonnen wurden, ging nun aufs klarste hervor, dass von einer Einleitung der Drainwässer der Rieselgüter in die Panke statt einer Verschlechterung vielmehr eine Verbesserung ihres Wassers erwartet werden müsste, denn dieses wasserarme Gewässer, das von Bernau an schon die Schmutzwässer einer ganzen Anzahl von Ortschaften und von 12 Gerbereien aufgenommen hatte, wurde durch die Ortschaft Pankow, die ihren gesammten Unrath hineinleitete, in einer geradezu unerhörten Weise verunreinigt, und konnte daher durch Zuführung der reinen Drainwässer nur gewinnen. Das Verbot der Berieselung der neuen Rieselgüter wurde denn auch sofort aufgehoben. Des Ferneren war aus den Ergebnissen der Koch'schen Bacterienzählung des Spreewassers noch ersichtlich,

dass die Spree, schon vor der Einmündung der Wuhle recht erheblich verunreinigt, bei ihrem Laufe durch die Stadt Berlin immer mehr mit Bacterien beladen wurde, und dass namentlich die Panke recht beträchtlich dazu beitrug.

In den drei Jahren, welche nun bis zu der erneuten systematischen Untersuchung des Spreewassers auf seinen Bacteriengehalt durch G. Frank verflossen, wurde an der Assanirung Berlins rüstig weiter gearbeitet. Zunächst wurde der Ausbau der Canalisation eifrigst gefördert, und im Bereich des Radialsystems IV besonders darauf Bedacht genommen, durch Anschluss der an der Panke gelegenen Grundstücke die Reinhaltung derselben zu fördern. Aber auch durch Regulirung ihrer Sohle, Ableitung des von Pankow kommenden Schmutzwassers in den Nordhafen und Einleitung des Condensationswassers der dort in der Nähe gelegenen Pumpstation IV in den südlichen, der Spree zufliessenden Pankearm suchte die Stadtverwaltung die Verunreinigung des Spreewassers durch die Panke zu vermindern. In den Radialsystemen I, II, III, IV und V wurde die Entwässerung zum Abschluss gebracht, und in den südlich vom Landwehrcanal gelegenen Radialsystemen VI und VII, deren Bebauung damals einen grossartigen Aufschwung genommen hatte, soweit vorbereitet, dass im Jahre 1885 schon eine grosse Zahl von Grundstücken angeschlossen werden konnte.

In den Jahren 1883 bis 1885 kam ferner ein grossartiges Werk wenigstens zur theilweisen Ausführung, das zwar in erster Linie die Interessen der Grossschiffahrt fördern sollte, in zweiter Linie aber auch der Gesundheitspflege Berlins unzweifelhaft von grossem Nutzen gewesen ist, nämlich die Canalisirung der Unterspree. In dieser, die ja seit Jahrhunderten schon alle aus der Stadt abfliessenden Unreinigkeiten hatte aufnehmen müssen, hatte durch die Absetzung der Sinkstoffe unterhalb der Stadt allmählich eine so starke Hebung ihres Bettes stattgefunden, dass die Vorfluth dadurch in hohem Maasse beschränkt wurde und sich namentlich bei Hochwasser empfindliche Uebelstände herausstellten. Um der Schiffahrt die Benutzung der Spree bis in

die Stadt hinein doch möglich zu machen, hatte man bisher die Stauvorrichtung am Mühlendamm benutzt, um möglichst viel Wasser in der Oberspree aufzuspeichern, und dieses dann im Bedarfsfall der Unterspree zuzuführen. Dieser häufige Wechsel zwischen künstlichem Hochwasserstand und rapider Absenkung hatte aber einerseits so erhebliche Anstauungen des Grundwassers in der Umgebung der Oberspree zur Folge, dass das Grundwasser in bewohnte und unbewohnte Keller drang, und andererseits die Entwickelung höchst lästiger Gerüche in dem durchfeuchteten Erdreich, wenn der Wasserspiegel gesenkt wurde. Es wurde daher, da Buhnenbauten bei der geringen Strömung und Breite der Spree keinen Erfolg gehabt hatten, eine grosse Stauanlage bei Charlottenburg geschaffen und der Flusslauf von da bis Spandau in der Weise regulirt, dass die Sohle des Flusses bis auf 1,50 m unter dem niedrigsten Havelwasserstand bei Spandau vertieft wurde.

Im Jahre 1885 kamen auch zwei für die künftige Reinhaltung der Unterspree höchst wichtige Beschlüsse zu Stande, nämlich der Entschluss der Charlottenburger Stadtvertretung, die Schwemmcanalisation mit Rieselfeldern einzuführen, und der Vertrag dieser Behörde mit der Berliner Stadtvertretung, demzufolge der Theil des östlichen Stadtgebiets von Charlottenburg, welcher sich in der Kurfürstenstrasse unmittelbar an Berlin anschliesst, in die Canalisation des Radialsystems VII von Berlin aufgenommen wurde. Während aber der Anschluss der bezüglichen Grundstücke an die Berliner Canalisation sehr bald zur Ausführung kam, konnte der Bau der eigenen Charlottenburger Canalisation erst im Jahre 1886 und der Betrieb erst am 1. Oktober 1890 begonnen werden.

Im April 1886 begann Georg Frank seine chemische und bacteriologische Untersuchungsreihe des Spreewassers, die er in dem oben bereits angeführten, unter Berücksichtigung und Würdigung aller einschlagenden Verhältnisse mustergültig geschriebenen Aufsatz niederlegte. Er liess vom April bis Ende 1886 alle 14 Tage, dann alle 4 Wochen aus dem Hauptlauf der Spree an sieben Berliner Brücken, beginnend

mit der Oberbaumbrücke und endigend mit der Moabiterbrücke, und im Landwehrcanal an zwei Stellen (Hafenplatz resp. Schönebergerbrücke und Lichtensteinbrücke) und dann noch bei Ruhleben, und in der Havel in Spandau selbst, in Pichelswerder, in Gatow, Cladow und Sacrow — wo die Havel sich nach ihrer 10 km langen, seeartigen Erweiterung wieder verengt — schöpfen[1]). Er bevorzugte in Berlin die Stellen, wo die Radialsysteme an einander stiessen. Leider liess er oberhalb Berlins gar nicht schöpfen, »weil an dem dicht oberhalb der Stadt gelegenen Stralauer Wasserwerk von Proskauer regelmässige Bacterienzählungen vorgenommen wurden.« Da dort das Rohwasser jedoch nicht von der Oberfläche entnommen wurde und die Untersuchungen nicht einmal immer an demselben Tage stattfanden, so ist ein Vergleich kaum möglich. Die erste und die zwei letzten (an der Moltke- und Moabiter-Brücke), sowie die im Landwehrcanal gewählten Schöpfstellen lagen im Bereich noch nicht vollkommen canalisirter Stadttheile.

Ueberblickt man die Ergebnisse der Frank'schen Arbeit, so findet man, dass die Spree an der Oberbaumbrücke, namentlich im Sommer, schon ziemlich stark verunreinigt, nämlich mit mehreren Tausend lebensfähigen Keimen pro Cubiccentimeter beladen in die Stadt eintrat, und im allgemeinen immer stärker mit Keimen beladen wurde, je weiter sie vorrückte. Am stärksten in dem Hauptlauf der Spree tritt fast jedesmal die Verunreinigung an der Moltkebrücke hervor, im Bereich des noch nicht canalisirten Stadttheils Moabit, was Frank einem dort mündenden alten Canal zuschreibt. Hie und da war schon an der Ebertsbrücke, wo der Kupfergraben sich wieder mit der Spree vereinigt hatte, eine deutliche Steigerung der Keimzahl erkennbar, während von einer beträchtlichen Verunreinigung durch die Panke an der nächstfolgenden Entnahmestelle — der Marschallbrücke — nichts mehr erkennbar war. Dass bei Ruhleben, wo einerseits der mit den Schmutzwässern des nördlichen Pankearms beladene rückkehrende Arm des Spandauer Schifffahrtscanales, ferner der Landwehrcanal und andererseits auch

1) Vergl. in Betreff der Schöpfstellen die Karte.

der berüchtigte, mit den Schmutzwässern von Charlottenburg, Schöneberg und Wilmersdorf beladene »schwarze Graben« in die Spree mündete, meist mehrere 100000 Keime und in Spandau noch mehr, einmal bis zu $2^1/_2$ Millionen Keime gefunden wurden, kann uns nicht befremden. Dagegen befremden im Vergleich zur Spree doch die recht hohen Keimzahlen (im Sommer regelmässig an beiden Stellen ein bis mehrere Hunderttausende, einmal an der Lichtensteinbrücke sogar $1^1/_2$ Millionen), die Frank im Landwehrcanal fand. Allerdings führte damals noch der Wiesengraben den grössten Theil der Abwässer der mächtig anwachsenden Ortschaft Rixdorf dem Landwehrcanal zu, dessen Wassermenge, wie Frank hervorhebt, ja kaum den vierten Theil der Spree ausmachte, während ihm andererseits viel grössere Schmutzmassen aufgebürdet wurden. Auch weist er auf den starken Schiffsverkehr, und die nothwendiger Weise ein erneutes Aufwühlen des bereits abgesetzten Grundschlammes herbeiführende Art der Fortbewegung der Schiffe durch Stangen hin, ist aber geneigt, die im Herbst und Winter eingetretene, nicht unbeträchtliche Verminderung der Keimzahlen (auf 19000 bis 40000) doch mit der wachsenden Zahl der im Laufe des Untersuchungsjahres in den Radialbezirken VI und VII angeschlossenen Häuser zu erklären, wie er überhaupt den Nothauslässen der Canalisation (besonders den selbstthätigen) die grösste Rolle bei der Verunreinigung der Berliner Wasserläufe zuweist und besonders hervorhebt, dass von 85 Nothauslässen sämmtlicher Radialsysteme damals 43, darunter von sieben Pumpstationen allein fünf grössere, in den Luisenstädtischen bezw. Landwehrcanal mündeten.

Unterhalb Spandau, in dem weiten Seebecken der Havel, haben die Frank'schen Untersuchungen einen gewichtigen Beitrag zur Selbstreinigung der Flüsse geliefert, denn bei Sacrow fand sich das Havelwasser, namentlich im Sommer, oft ebenso rein oder noch reiner als das Spreewasser an der Oberbaumbrücke, obgleich es bei Gatow und selbst noch bei Cladow oft noch Hunderttausende von Keimen enthalten hatte.

Ehe wir nun darangehen, unsere eigenen Untersuchungsergebnisse mit den Frank'schen zu vergleichen, möge ein kurzer Hinweis auf die seit den verflossenen 10 Jahren in den an oder nahe der Oberspree und dem Landwehrcanal gelegenen Vororten stattgehabten Veränderungen gestattet sein. In dieser Hinsicht interessirt uns zunächst ein Vergleich der Bevölkerungsziffern der unmittelbar an der Oberspree gelegenen Ortschaften.

Es stieg die Einwohnerzahl vom 1. XII. 1885 bis zum 1. XII. 1895:

in	Cöpenick	von	11 357	auf	17 387
»	Ober-Schöneweide . .	»	207	»	626
»	Boxhagen-Rummelsburg	»	5 628	»	16 427
»	Stralau	»	735	»	1 567
»	Lichtenberg	»	5 364	»	28 865
»	Nieder-Schöneweide . .	»	915	»	10 962
»	Treptow	»	1 085	»	1 835.

Lichtenberg haben wir mit aufgenommen, weil seine Abwässer durch einen Graben, genannt »Kuhgraben«, in den Rummelsburger See münden (was die von Friedrichsfelde durch den Grenzgraben allerdings auch thun), nachdem sie nach Röckner-Rothe'schem System »geklärt« sind. Schlimm genug sieht es aber immer noch aus. Von den anderen genannten Orten besitzt nur noch Rummelsburg eine Art »Klärung«. Die geklärten Abwässer gehen durch die Vorfluthgräben in die Spree, und wir werden wohl nicht fehlgehen, wenn wir annehmen, dass mit alleiniger Ausnahme der fast überall mittelst Tonnensystem-Abfuhr entfernten Fäkalien die sämmtlichen Hausabwässer jener Orte in die Spree gelangen. Wichtig ist auch ein Hinweis auf die Fabriken an der Oberspree: in Cöpenick bestanden schon 1886 und bestehen noch drei grosse Dampfwaschanstalten mit zusammen 176 Angestellten. Dann folgt die Färberei von Spindler mit 1886 Angestellten, die nach einem missglückten Versuch, die Fabrikabwässer durch Rieselung über eine grosse Wiese zu reinigen, dieselben jetzt in drei grossen Becken unter Zusatz von Chemikalien klärt, ferner auf dem rechten Ufer einige Erfrischungslocale und kleinere Fabriken, während mehrere grössere (u. A. eine riesige Centrale der Electricitäts-Gesellschaft

mit Kabelfabrik, die später 1500 Arbeiter beschäftigen soll und eine Messingfabrik) noch im Bau sind. Dann folgen in Nieder-Schöneweide eine grosse chemische Fabrik mit 686 Arbeitern, zwei Textilfabriken, eine mit über 600, eine mit 1000 Angestellten, sowie eine Reihe kleinerer Betriebe, von denen ein Bauholzgeschäft mit Kunstsandsteinfabrication 250 Arbeiter beschäftigt, während eine grosse Kattunfabrik seit einiger Zeit wegen Umbaus still steht. In Boxhagen-Rummelsburg gruppiren sich um den Rummelsburger See herum vier zwischen 1865 und 1886 in Betrieb gesetzte grosse Textilfabriken, nämlich eine Plüschfabrik mit früher 630, jetzt 850 Leuten, eine Teppichfabrik mit früher 290, jetzt 500 Leuten, eine Appretur und Färberei mit etwa 300 und eine Jute-Spinnerei und Weberei mit 868 Arbeitern bezw. Arbeiterinnen. Daneben findet sich eine Eisfabrik, die jetzt 200 Pferde auf ihrem Grundstück stehen hat, eine Brauerei, eine Anilinfabrik und eine Reihe kleinerer mit Eisengiesserei, Maschinenbau, Möbelfabrication, Flaschenherstellung, Mörtel- und Asphaltindustrie beschäftigter, erst 1889 und 1890 entstandener Fabrikbetriebe mit zusammen etwa 800 bis 900 Arbeitern, während eine grosse Palmkernöl- und Schwefelkohlenstoff-Fabrik seit Jahren ausser Betrieb ist. Diese sämmtlichen Fabriken müssen ihre, wenn irgendwie verdächtigen Abwässer erst »klären«, ehe sie dieselben in die Spree bezw. den Rummelsburger See einlaufen lassen, doch ist die Controle natürlich äusserst schwierig. Erwähnung verdient ferner noch, dass sich bei Rummelsburg der Viehbahnhof und ein umfangreicher Geflügelmarkt, letzterer zum Theil hart am Ufer des Sees gelegen, befinden, und dass die beiden dort auf einem grossen Grundstück am Seeufer vereinigten städtischen Anstalten, das Arbeitshaus und das Waisenhaus, ihre sämmtlichen Abwässer auf ein kleines Rieselfeld bringen, das, zwischen Frankfurter Chaussée und dem Seeufer sich hinziehend, einige Meter über dem Wasserspiegel des Rummelburger Sees gelegen ist. Eine in Treptow gelegene Anilinfabrik hat einen Vertrag mit der Berliner Stadtverwaltung abgeschlossen, demzufolge sie ihre Abwässer der Berliner Canalisation übergeben darf.

Was die Beseitigung der Abwässer aus den übrigen Vororten Berlins betrifft, welche früher die öffentlichen Wasserläufe Berlins in sehr starker Weise verunreinigten, so ist zunächst Rixdorf hervorzuheben, das seit einigen Jahren eine unterirdische Schwemmcanalisation mit Rieselfeldern (bei dem Dorfe Wassmannsdorf) eingerichtet hat, sodass es nur noch bei starken Regenfällen genöthigt ist, den in den Landwehrcanal mündenden Wiesengraben als Nothauslass zu benutzen. Allerdings ist das Canalnetz von Rixdorf noch nicht vollständig ausgebaut, denn ein Erweiterungsbauplan liegt zur Zeit den zuständigen Behörden zur Begutachtung vor.

Das im Norden von Berlin gelegene Pankow, jetzt ein Ort mit mehr als 14000 Einwohnern, hat dagegen eine Canalisation mit Klärsystem nach Röckner-Rothe eingeführt, von der die oberirdisch der Panke zufliessenden Meteorwasser ausgeschlossen sind. Die Ableitung der geklärten Schmutzwässer erfolgt in die Panke und scheint zu gesundheitlichen Bedenken keinen Anlass zu bieten.

Die Reinhaltung der Panke, aus deren Bett 1886/87 von zwei besonders dazu angestellten Arbeitern nicht weniger als 776 Fuhren à 2 cbm (1892/93 noch 29, 1893/94 aber nur noch 8 Fuhren und seitdem keine mehr) herausgeschafft worden waren, wird seit 1891 besonders dadurch erleichtert, dass eine durch eine Mühle früher bedingte Stauung so gut wie ganz behoben ist. Allerdings hat es den Anschein, als ob der Schlamm jetzt durch das schneller strömende Wasser nun weiter fortgeführt und schliesslich im Nordhafen abgelagert wird, wo sich 1896 zum Schaden der Schiffahrt eine Schlammbank von nicht weniger als 1,5 m Mächtigkeit gezeigt hat.

In den Jahren 1888 bis 1894 wurde dann auch die Canalisation der Unterspree durch den Umbau des Damm-Mühlenstauwerks und die Durchführung einer grossen Schiffsschleuse daselbst beendet. Dadurch wurde es möglich, die zukünftigen Hochwässer gegenüber den bisher bekannten höchsten Wasserständen in der Oberspree um etwa 1,5 m, in

der Unterspree am Mühlendamm um rund 1 m, an der unteren Weichbildgrenze um rund 0,6 m zu senken (Berlin und seine Bauten 1896 Bd. I, S. 85), sodass das Eindringen von Stauwasser in die Keller der Grundstücke, im Bereich der Oberspree, nahezu unmöglich gemacht wurde. Damit wurde, um die nöthige Wassertiefe für den neuen Grossschiffahrtsweg herstellen zu können, eine sehr energische Baggerung nicht nur von der Jannowitzbrücke bis zum Mühlendamm, sondern auch vom Mühlendamm bis etwa zur Ebertsbrücke nöthig, und dadurch naturgemäss eine gründliche Reinigung dieses Theiles des Flussbetts von abgesetztem Schlamm herbeigeführt. Daran schloss sich dann die Errichtung von nahezu 1400 m langen, steinernen Ufermauern an der Unterspree, die natürlich im Interesse der Reinhaltung des Flussbettes auch mit Freude begrüsst werden musste.

Wenden wir uns nun zu dem Zustande der Berliner Canalisation vor Beginn unserer Untersuchungen, so können wir aus der Tabelle I auf S. 101 ersehen, welche gewaltigen Fortschritte die Beseitigung der Abwässer in den 10 Jahren seit Dr. G. Frank's Untersuchungen gemacht hat.

Der Ueberschuss in der Anzahl der angeschlossenen gegen die Zahl der vorhandenen bebauten Grundstücke am 2. December 1895 im Gebiet der Radialsysteme II, III und IV dürfte sich, wie schon G. Frank hervorhebt, daraus erklären, dass die öffentlichen Bedürfnisanstalten in den Listen der Canalisationsverwaltung als angeschlossene Grundstücke nachgewiesen werden. Wir erkennen aus dieser Tabelle, dass die Radialsysteme I bis IV, VI und VII, X und XII ungefähr vollständig, die Systeme V, VIII und IX zum grössten Theil ausgebaut sind, das System XI dagegen noch gar nicht in Angriff genommen ist und ausser Betracht bleiben kann. Jedenfalls waren laut Tabelle I am 2. December 1895 in ganz Berlin von rund 24000 vorhandenen bebauten Grundstücken mit rund 1675000 Einwohnern nur etwa 600 Grundstücke mit nicht ganz 50000 Einwohnern noch nicht an die Canalisation angeschlossen. Doch verminderte sich diese Zahl in dem folgenden Jahre wieder

beträchtlich, da am 1. December 1896 24314 angeschlossene Grundstücke gezählt wurden.

Tabelle I[1]).

Nach der Volkszählung vom 1. December 1885				Nach der Volkszählung vom 2. December 1895		
Nummer des Radialsystems	Zahl der bebauten Grundstücke	Ortsanwesende Bevölkerung	Zahl d. angeschloss. Grundstücke	Zahl der bebauten Grundstücke	Ortsanwesende Bevölkerung	Zahl der angeschlossenen Grundstücke
I	1 459	143 123	1 398	1 796	180 831	1 768
II	2 882	169 935	2 880	2 852	156 903	2 926
III	2 973	102 957	3 038	2 847	88 531	3 113
IV	4 586	300 941	4 332	5 111	347 549	5 230
V	3 532	285 093	3 327	4 102	330 101	3 994
VI	1 343	99 445	57	1 800	147 933	1 723
VII	1 276	73 417	882	1 496	90 142	2 152 { davon Berlin . . 1 463 Charlottenbg. 446 Schöneberg 214
VIII	644	48 258	—	1 446	127 854	} 1 654
VIII a	78	2 432	—	315	14 526	
IX	356	20 343	—	496	36 933	410
X	687	56 612	—	1 369	123 686	1 295
XI	23	667	—	88	6 852	—
XII	185	9 062	—	283	21 902	417 { davon Berlin . . . 269 Lichtenberg . 142
Mühlendamm	26	430	—	—	—	—
Schifferbevölkerg.	—	2 527	—	—	3 561	—
Summe	20 050	1 315 287	15 914	24 001	1 677 404	Berliner: 23 845 Fremde: 803

Uns wurde im Juni 1896 von unserm hochverehrten Chef, Herrn Professor Dr. M. Rubner, dem wir auch an dieser Stelle unseren wärmsten Dank für seine Anregung und Förderung bei dieser Arbeit aussprechen möchten, der Auftrag gegeben, die von anderer Seite in früheren Jahren vorgenommenen bacteriologischen und chemischen Spreewasserunter-

1) Diese Zahlen verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Stadtbauinspectors Adams.

suchungen wieder aufzunehmen, und an denselben Orten innerhalb Berlins, in denselben Zeitabständen, und zu derselben Tageszeit, wie G. Frank die Proben entnehmen zu lassen, um festzustellen, inwieweit die Entwickelung der Stadt und ihrer Entwässerungsverhältnisse auf die Beschaffenheit des Flusslaufs eingewirkt haben. Von den unterhalb Berlins gelegenen Frankschen Schöpfstellen wurde nur Sacrow beibehalten, dagegen als neuer Schöpfort oberhalb Berlins das mit der Eisenbahn leicht erreichbare Grünau an der Dahme hinzugefügt, oberhalb dessen sich weder nennenswerthe Ortschaften, noch Fabriken befinden. Im Müggelsee, oberhalb Friedrichshagen zu schöpfen, verbot sich durch die schlechte Eisenbahnverbindung und dem Mangel an Personal. Doch liegen von dort ja die in dem neuen Berliner Wasserwerk (an dem allerdings aus der Tiefe von mehreren Metern angesaugten Rohwasser) vorgenommenen Untersuchungen vor.

Wie wir weiter unten sehen werden, ist die Wahl der Schöpforte seitens des Dr. Frank eine recht glückliche gewesen, sodass wir nicht nur des directen Vergleichs wegen dieselben beibehalten haben, wenn auch manche Gründe, die für Dr. Frank's Wahl bestimmend waren, längst in Wegfall gekommen sind (wie z. B. Grenzen ausgebauter und noch unausgebauter Radialsysteme).

Es wurde also in den Morgenstunden zwischen 7 und 10 Uhr an folgenden Stellen geschöpft:

Oberhalb Berlins in der Dahme: bei Grünau.

Innerhalb Berlins in der Spree:

an der Oberbaumbrücke,
» » Jannowitzbrücke,
» » Friedrichsbrücke,
» » Ebertsbrücke,
» » Marschallbrücke,
» » Moltkebrücke,
» » Moabiterbrücke.

Innerhalb Berlins im Landwehrcanal: am Hafenplatz und an der Lichtensteinbrücke.

Unterhalb Berlins in der Havel: bei Sacrow.

Von der Wasserentnahme an den andern unterhalb Berlins gelegenen Orten, wo G. Frank seiner Zeit auch noch Wasser hatte schöpfen lassen, also Ruhlebener Schleuse, Spandau, Pichelsdorf, Gatow und Cladow wurde diesmal Abstand genommen, weil wegen der (mit Ausnahme von Spandau) schlechten Verbindungen gar keine Aussicht war, das geschöpfte Wasser wenigstens innerhalb von 2 Stunden nach der Entnahme zur Verarbeitung ins Laboratorium zu bekommen, und weil die für diese Orte gefundenen Keimzahlen für Berlin kein besonderes Interesse beanspruchen konnten. Dagegen wurde Sacrow als Entnahmestelle beibehalten, da dort die Havel sich nach ihrer 10 km langen seeartigen Erweiterung wieder stark verengt und man hoffen konnte, hier, nach vollzogener Selbstreinigung des Flusses, ein als Gegenstück zur Dahme bei Grünau interessantes Ergebnis zu bekommen.

Die Proben wurden unter den üblichen Vorsichtsmaassregeln aus der Mitte des Stromes für die bacteriologische Untersuchung in je einem sorgfältig sterilisirten Erlenmeyer'schen Kölbchen von 100 ccm Inhalt, und für die chemische Untersuchung in einer grossen, mit Glasstopfen verschlossenen Zweiliter-Flasche entnommen. In der Spree, von der Oberbaum- bis zur Moabiterbrücke wurden die Proben, Dank dem grossen Entgegenkommen des königlichen Polizeipräsidiums, für das auch an dieser Stelle unseren wärmsten Dank auszusprechen uns eine angenehme Pflicht ist, von einem Dampfer der Schiffahrtspolizei durch zwei Wachtmeister dieser Behörde entnommen, während in Grünau und Sacrow durch einen eigens dorthin entsandten Laboratoriumsdiener von einer Fähre aus (auch aus der Mitte des Stromes) und an den beiden Stellen des Landwehrcanals durch einen anderen Mann von der Brücke aus geschöpft wurde. Dann wurden die Proben unter möglichster Beschleunigung in das Laboratorium gebracht, und dort mit der gewöhnlichen 10 proc. Fleischwasserpepton-Kochsalzgelatine zu Platten verarbeitet. Leider fanden die Untersuchungen schon im December 1896 ein vorzeitiges Ende dadurch, dass der Dampfer der Schifffahrtspolizei wegen Reparaturbedürftigkeit die Fahrten aufgeben musste.

Es wurden beim ersten Male nach Frank's Vorgang Platten mit einem Zusatz von 1,0, 0,5 und 0,01 ccm Flusswasser zur Gelatine gegossen. Da sich aber herausstellte, — die Untersuchungen fingen ja im Sommer an — dass die Platten, welche 1,0 ccm enthielten, so keimreich waren, dass die Platte wegfloss, ehe die langsamer wachsenden Keime zur Entwickelung gekommen sein konnten, so wurden in der Folge von jeder Wasserprobe je drei Platten gegossen, deren eine 0,5 ccm, eine 1 Tropfen, also etwa 0,05 ccm, und eine 0,005 ccm, nämlich 0,5 ccm einer 100fachen Verdünnung der Wasserprobe enthielt. Man wird mir nun einwenden, dass ein Tropfen nur ein sehr

ungenaues Maass sei und nicht ohne Weiteres für 0,05 ccm gelten könne. In der That zeigten auch die verwendeten auf je 1,0 ccm graduirten Pipetten ein Schwanken der auf 1 ccm gehenden Tropfenzahl von 18 bis 22. Da es sich hier indessen nur darum handelte, gewissermaassen eine Controle zwischen den fast immer zu niedrig ausfallenden Zahlen der ersten, mit 0,5 ccm des Wassers gegossenen Platte und der mit 100facher Verdünnung gegossenen einzuschalten, so halte ich den dabei entstehenden Fehler nicht für so sehr wesentlich. Als Beweis, dass beim sorgfältigen Arbeiten dieser Fehler sogar sehr geringfügig sein kann, seien hier die am 8. September 1896 mit Zusatz von 0,5 und mit 1 Tropfen des zu untersuchenden Wassers zur Gelatine gewonnenen Zahlen beigefügt:

Tabelle II.

Schöpfort	Zahl der Keime in der Platte			
	enthaltend 0,5 ccm		enthaltend 0,05 ccm	
		also in 1 ccm		also in 1 ccm
Grünau	104	208	32	620
Oberbaumbrücke	3 900	7 800	388	7 760
Jannowitzbrücke	6 640	13 280	672	13 440
Friedrichsbrücke	5 880	11 760	632	12 640
Ebertsbrücke	4 270	8 540	507	10 140
Marschallbrücke	4 360	8 720	424	8 480
Moltkebrücke	4 020	8 040	402	8 040
Moabiterbrücke	4 344	8 688	519	10 380
Hafenplatz	11 251	22 502	1 060	21 200
Lichtensteinbrücke	—	—	2 027	40 540
Sacrow	93	186	8	160

Gezählt wurde ausschliesslich mit der Lupe.

Als endgültig richtig angenommen wurden in den meisten Fällen die auf der mit 0,5 ccm der 100fachen Verdünnung gegossenen Platte gewachsene Colonienzahl, da diese Platten in den meisten Fällen auch in der Sommerhitze noch am 3. und 4. Tag gezählt werden konnten, während die anderen durch die peptonisirenden Bacterien bereits verflüssigt waren. Nicht ausser Acht gelassen werden darf hierbei freilich, dass durch das öftere Herausnehmen dieser Platten aus der feuchten Kammer zum Zwecke der Besichtigung und Zählung Gelegenheit zur Verunreinigung durch Luftkeime gegeben ist, die, wenigstens bei einer Keimzahl zwischen 500 bis 2000 insofern schwer in's Gewicht fällt, als ja jeder Luftkeim, mit 200 multiplicirt, in Rechnung kommt.

Wir geben eine für jede einzelne Untersuchung genau nach dem Frank'schen Vorbild angefertigte Zusammenstellung der chemischen und bacteriologischen Resultate mit den Temperatur- Wasserstands- und meteorologischen Angaben am Schlusse in der Anlage 1. Hier folgen aber die Keimzahlen der 1886er und 1896er Untersuchung nebeneinander:

Tabelle III.

		14. Juli	28. Juli	11. August	25. August	8. Septembr.	22. Septembr.	6. October	20. October	3. Novembr.	17. Novembr.	1. December
Grünau	1896	1 700	7 000	1 100	540	600	400	600	1 400	200	2 200	400
Oberbaumbrücke	1886	8 400	1 900	4 500	4 200	7 000	6 700	1 900	2 600	10 300	8 100	5 900
	1896	12 800	20 800	35 400	23 400	10 400	29 400	11 000	5 300	2 800	3 200	4 500
Jannowitzbrücke	1886	18 800	13 200	19 000	9 300	21 800	15 000	5 300	6 700	11 100	7 800	4 600
	1896	16 000	6 340*	77 400	57 400	16 400	27 000	13 200	5 800	11 500	4 200	3 200
Friedrichsbrücke	1886	11 500	130 000	27 000	15 400	65 000	40 000	75 000	25 900	22 800	15 300	21 000
	1896	36 900	22 400	84 600	34 400	14 400	13 000	7 100	2 200	3 000	2 000	4 320
Ebertsbrücke	1886	12 100	30 000	45 000	14 400	144 000	154 000	50 000	22 800	132 500	8 400	10 100
	1896	2 700	9 160*	152 200	221 400	17 200	8 020	13 400	2 400	3 400	15 400	2 400
Marschallbrücke	1886	49 000	30 000	51 000	17 100	136 800	108 000	16 600	15 000	36 500	6 100	4 800
	1896	6 700	4 970*	149 600	53 400	15 200	7 400	11 700	23 000	17 500	2 800	10 000
Moltkebrücke	1886	130 000	64 800	63 000	7 300	385 000	143 000	53 200	18 600	240 000	5 800	5 500
	1896	12 700	29 000	936 000	41 200	14 200	5 400	18 200	4 400	1 600	2 200	5 800
Moabiterbrücke	1886	98 000	72 000	90 000	52 300	96 000	154 000	78 500	45 000	51 000	41 400	6 200
	1896	30 300	17 400	81 000	84 600	17 600	8 000	10 000	16 000	3 000	4 800	4 800*
Hafenplatz	1886	150 000	494 000	350 000	200 000	200 000	260 000	165 000	300 000	216 000	198 000	27 000
	1896	15 900*	38 400	7 200*	12 600	22 500	8 400	12 800	37 000	19 200	3 400	2 400
Lichtensteinbr.	1886	121 000	320 000	90 000	42 500	540 000	356 400	162 000	224 600	—	35 100	19 600
	1896	11 600	35 800	65 200	5 200	43 540	20 600	45 200	13 400	15 000*	6 400	4 400
Sacrow	1886	8 300	4 000	—	2 000	24 700	6 800	12 400	11 100	20 300	3 900	4 500
	1896	158*	7 000	4 200	3 800	186*	800	110*	4 400	800	1 400	3 400

Bemerkung: Die mit einem * versehenen Zahlen sind zweifelhaft und aller Wahrscheinlichkeit nach zu klein. Dieselben sind, da die mit der Verdünnung gegossene Platte meist durch Verflüssigung unbrauchbar geworden war, einer der anderen beiden Platten entnommen.

Aus der vorstehenden Zusammenstellung geht hervor, dass die Dahme bei Grünau im Kubikcentimeter meist nur wenige Hundert Keime zeigt, sodass man sie wohl noch ein wenig verunreinigtes Oberflächenwasser nennen kann. Wodurch am 28. Juli 1896 die Keimzahl auf 7000 erhöht worden ist, kann nicht angegeben werden. Allerdings kann sie den Vergleich mit dem Wasser, das durch die Saugcanäle aus ca. 4 m Tiefe aus dem Müggelsee in das neue Wasserwerk bei Friedrichshagen gefördert wird, ebensowenig aushalten wie mit dem Wasser des Tegeler Sees, wie nachstehende Tabelle[1]) zeigt.

Tabelle IV.

Keimgehalt des Rohwassers in Tegel	Datum		Keimgehalt des Rohwassers des Wasserwerks am Müggelsee
86	14. Juli	1896	91
149	28. Juli	»	330
—	11. August	»	150
138	25. August	»	245
80	8. September	»	114
63	22. September	»	74
79	6. October	»	92
90	20. October	»	175
172	3. November	»	167
125	17. November	»	375
98	1. December	»	8 245

Die Reinigung des Havelwassers in dem grossen Havelbecken zwischen Pichelsdorf und Sacrow, die G. Frank nachgewiesen hatte, findet sich durch die von uns bei Sacrow gefundenen Keimzahlen wieder bestätigt. Auch geht daraus hervor, dass die bei Gatow (etwa 8500 m oberhalb Sacrow) erfolgende Einleitung der Drainwässer von den auf dem hohen rechten Havelufer gelegenen Charlottenburger Rieselfeldern nicht den

1) Diese Zahlen verdanken wir der Güte des Herrn Directors der städtischen Wasserwerke, Stadtrath Beer.

geringsten Einfluss hat. Dagegen zeigen unsere Zahlen sowohl im Hauptlauf der Spree, als auch im Landwehrcanal stellenweise recht erhebliche Abweichungen gegen die von Frank gefundenen. So zeigt sich, wenn die Stationen nach der Reihenfolge, wie sie sich flussabwärts folgen, betrachtet werden, dass an der Oberbaumbrücke während unserer Beobachtungszeit ein nicht unerheblich grösserer Keimgehalt bestand als im Jahre 1886, während an der Jannowitzbrücke der Unterschied sich schon verwischt. Dazu ist zu bemerken, dass auf dem linken Spreeufer, 150 m oberhalb der Oberbaumbrücke, sich eine weit ins Wasser hineingebaute Badeanstalt befindet, und dass an demselben Ufer, 400 m oberhalb der Brücke, die Oberschleuse des Landwehrcanals liegt, vor der den ganzen Sommer und Herbst hindurch eine Unzahl von Spreekähnen auf Einlass warten. Dass der durch die in Treptow im Jahre 1896 veranstaltete, bis Mitte Oktober dauernde Berliner Gewerbe-Ausstellung gewaltig gesteigerte Personendampferverkehr auch einen gewissen Einfluss gehabt habe, könnte aus der Abnahme der Keimzahl vom 20. October ab geschlossen werden. Doch würde diese Annahme wenig Wahrscheinlichkeit für sich haben, da von jenem Zeitpunkt an auch im Landwehrcanal die Keimzahl nicht unerheblich abgenommen hat. Dass die Abwässer der Gewerbe-Ausstellung in Treptow nicht in die Spree eingelassen würden, war durch Anschluss sämmtlicher dort befindlicher Gebäude an die Canalisation in Rixdorf verhindert worden. An den anderen Entnahmestellen im Hauptlauf der Spree ist der Keimgehalt so wechselnd, dass von einer wesentlichen Aenderung, d. h. Besserung gegen früher, wohl nicht die Rede sein kann, während eine durchgängige, ganz auffallende Herabsetzung der Keimzahlen an den beiden Entnahmestellen im Landwehrcanal zu constatiren ist. Unverkennbar ist an unseren Zahlen, ebenso wie an denen Franks, der Einfluss der kalten Jahreszeit (November und Dezember). Nur an einem Tage, dem 11. August 1896, wurden an den meisten Entnahmestellen in der Spree etwa 3 bis 10 Mal soviel Keime gefunden als an den anderen Tagen. Fragen wir nun, ob an diesem oder am vorangegangenen

Tage heftige Regengüsse niedergegangen seien, so dass man annehmen müsste, die Nothauslässe der Canalisation seien in Thätigkeit gewesen, so lässt sich nachweisen, dass der letzte überdies nur $1^1/_4$ Stunden anhaltende und eine Höhe von nur 1,8 mm aufweisende Regenschauer mehr als 50 Stunden vorher über Berlin hingegangen war. Halten wir nun damit zusammen, dass der einzige Tag unter unseren Schöpftagen, an welchem zu derselben Zeit, wo die Proben entnommen wurden, nachweislich nicht nur die selbstthätigen, sondern auch die an den Pumpstationen befindlichen Hauptnothauslässe einer ganzen Reihe von Radialsystemen (nämlich II, IV, V, VIII und X) längere Zeit, nämlich eine halbe bis $2^1/_2$ Stunden, geöffnet gewesen sind, der 25. August 1898 gewesen ist, und besehen wir uns unter diesem Gesichtspunkt die an jenem Tage gefundenen Keimzahlen näher, so müssen wir gestehen, dass ein deutlicher Einfluss der Nothauslässe an jenem Tage nur an zwei Stellen, nämlich an der Ebertsbrücke und in erheblich geringerem Maasse auch an der Moabiterbrücke erkennbar ist, während an der Jannowitzbrücke, von dem Einfluss des ca. 700 m oberhalb mündenden Hauptnothauslasses der Pumpstation V, der an jenem Tage von 6 Uhr 45 Min. a. m. an bis 9 Uhr 20 Min. a. m. geöffnet war, kein Einfluss zu spüren ist und im Landwehrcanal, in welchen der Hauptnothauslass der Pumpstation II und der Wiesengraben münden, weder am Hafenplatz noch an der Lichtensteinbrücke auffallend hohe Zahlen gefunden wurden. Wir müssen uns also sehr hüten, eine auffällige Steigerung der Keimzahlen ohne Weiteres den Nothauslässen der Canalisation in die Schuhe zu schieben, wenn viel stärkere Verunreinigungen vorkommen, welche nachweislich auf anderen, von uns nicht erkennbaren Wegen zu Stande gekommen sind. Es führt uns dies zu der Frage, ob der Einfluss der Nothauslässe, welche selbstthätig und uncontrolirbar in Thätigkeit treten, auf die Verunreinigung der öffentlichen Wasserläufe wirklich so gross ist, wie Frank annimmt, ob es also einerseits sehr häufig vorkommt, dass dieselben in Thätigkeit treten (vielleicht schon bei ganz geringen Regenschauern) und ob andererseits nicht die Verdünnung der

durch sie in die Wasserläufe gebrachten Unreinigkeiten so gross ist, dass sie gar keine Rolle mehr spielen können.

Frank beruft sich in dieser Hinsicht besonders darauf, dass »nach starken Regengüssen im Sommer, wo grössere Mengen Schmutzwässer aus den Canälen in den Stromlauf eintreten, das Fischsterben in der Spree noch immer häufig und sehr bedeutend ist.«

Diese Angabe klingt, als ob eigentlich bei jedem starken Regen in der Spree Fischsterben einträte, während es wohl recht schwer fallen dürfte, nachzuweisen, dass auch nur einmal in jedem Jahre »bedeutendes Fischsterben« beobachtet worden sei. Und selbst wenn es »häufig« wäre, so möchten wir den Schluss, dass es dann durch das Oeffnen der Nothauslässe der Canalisation verschuldet sei, immer noch für unbewiesen halten. Denn unserer Ansicht nach liegt es viel näher, das Fischsterben in Zusammenhang zu bringen mit einer durch plötzliche Ueberfüllung in Folge des Regens nothwendig werdenden Schleusenöffnung an den Klärbassins der an der Spree bezw. dem Landwehrcanal gelegenen Fabriken, wodurch Säuren, Laugen, Salze oder giftige Farben in die Stromläufe gelangen. Frank lehnt sich auf gegen die in der Festschrift der Stadt Berlin zur 59. Deutschen Naturforscher-Versammlung gegebene Schätzung des Grades der Verdünnung der Hausabwässer. Es heisst dort: »In dem Augenblicke wo die Nothauslässe zu functioniren beginnen, ist das Verhältnis des Hauswassers zum Regenwasser wie 1:8,2, und da excrementelle Stoffe im Hauswasser bei der Annahme von nur 60 l pro Tag und Kopf schon im Verhältnis von 1:100 verdünnt sind, im Ganzen nur wie 1:800. Treten aber die Nothauslässe in volle Function, so sinkt dieses Verhältnis bis auf rund 1:15000«. Wenn nun auch diese Berechnung ausser Acht lässt, dass das zur Verdünnung der Hausabwässer dienende Regenwasser doch zum grössten Theil durch den Strassenschmutz, der Thierkoth und dergl. enthält, selbst stark verunreinigt ist, und ausserdem auch nicht berücksichtigt, dass nicht allein die Excremente, sondern auch die anderen Hausabwässer, wie namentlich Wasch- und Badewässer, für uns in den öffentlichen Wasser-

läufen sehr unerwünscht sind, so muss man nach den neueren Beobachtungen zugeben, dass die oben gegebene Berechnung sogar noch hinter der Wirklichkeit zurückbleibt.

Köhn nämlich, der Erbauer der Charlottenburger Canalisation, spricht sich bei der Beschreibung seines Werkes in »Berlin und seine Bauten« (Bd. I Abschnitt IX S. 365) folgendermaassen aus: »Die Grundsätze, auf denen der Plan der Canalisation von Charlottenburg beruht, sind im Wesentlichen dieselben, welche Hobrecht bei der Canalisation von Berlin durchgeführt hat. Dies gilt besonders für die in der Secunde abzuführende grösste Wassermenge. Hierbei fehlt es leider dem Ingenieur noch immer an genauen Unterlagen. Für Berlin wurde gerechnet, dass von der angenommenen secundlichen, durch die Canäle abzuführenden Gesammtwassermenge von 22,730 l für 1 ha auf das Regenwasser 21,185 l und auf das Hauswasser 1,545 l entfallen, sodass die grösste Regenwassermenge etwa das 13 fache der grössten Hauswassermenge ausmacht. Hierbei ist die Hauswassermenge danach bemessen, dass ein Meistverbrauch von 127,5 l für den Kopf und Tag zu Grunde gelegt ist, wovon die Hälfte in 9 Stunden abfliessen soll, und dass eine Bevölkerungsdichtigkeit von 785 Einwohnern für 1 ha vorausgesetzt wird. Diese Dichtigkeit ist in Berlin aber nirgends erreicht, überschreitet vielmehr thatsächlich fast nirgends die Höhe von 400.

Weil nun aber dennoch bei heftigen Gewitterregen die wirkliche Inanspruchnahme der Berliner Leitungen die rechnungsmässig als die grösste festgesetzte Zahl erreicht und sogar überschritten hat, so wird dadurch bewiesen, dass der Antheil des Regenwassers an der Gesammtmenge grösser ist als der Hobrecht'schen Annahme zu Grunde gelegt wurde. Deshalb ist für Charlottenburg eine secundliche Hauswassermenge von 0,788 l und eine secundliche grösste Regenwassermenge von 21,942 l für 1 ha angenommen, sodass die Regenwassermenge nach den Charlottenburger Annahmen rund das Achtundzwanzigfache von der bezeichneten Hauswassermenge ausmacht.«

Aus dieser Berechnung scheint mir zur Genüge hervorzugehen, dass bei mässigen, nicht allzu lange anhaltenden

Regengüssen die Verschmutzung unserer öffentlichen Wasserläufe durch die Nothauslässe der Canalisation recht geringfügig ist. Dass, wie Frank hervorhebt, in Berlin im Sommer heftige Strichregen nicht selten sind, mag seine Richtigkeit haben, und ausserdem mag auch noch zugegeben werden, dass mit der Zunahme der Bebauung und vor allem der Pflasterung, die verhindert, dass ein grosser Theil des Wassers in den Boden versickert, die Beanspruchung der Canalisationsrohre plötzlich steigen und öfters so gross werden kann, dass wenigstens die selbstthätigen (Ueberlauf-) Nothauslässe in Function treten, aber das wird nur selten längere Zeit dauern. Es mag hierbei noch bemerkt werden, dass auf die Menge des aus den selbstthätigen Nothauslässen ausfliessenden Wassers doch durch theilweises Zusetzen der Ausflussöffnung mittelst Schwellen ein regulirender Einfluss ausgeübt werden kann, und dass davon in den Radialsystemen I, II, III, welche sowohl nach der Spree als auch nach dem Landwehrcanal Nothauslässe senden, regelmässig Gebrauch gemacht wird, um bei starkem Regen der wasserreicheren Spree den grösseren Theil der Schmutzwässer zu übergeben. Wir hätten gerne die Pegelstände der Sammelbrunnen in den Pumpstationen zur Controle der Nothauslässe benützt, doch ist dies unthunlich, weil aus technischen Gründen auch eine künstliche Regulirung dieses Wasserstandes vorgenommen war, um zuerst nur die direct in die Spree mündenden Auslässe in Thätigkeit zu setzen. Auch aus der Höhe des täglichen Regens allein lässt sich über die Häufigkeit der Oeffnung der Nothauslässe nichts aussagen, da neben der zeitlichen Vertheilung des Regens auch der Flusswasserstand in Rechnung gezogen werden muss.

Nach den Ergebnissen der Regenmessung von 1849 bis 1873 hat es in Berlin im Durchschnitt im Jahre an 158,56 Tagen geregnet, doch betrug die Gesammtregenhöhe im Jahr = 593,65 mm und im Durchschnitt eines Regentages nur = 3,73 mm. Die Zahl derjenigen Regentage, an denen mehr als = 13,0 mm Regen fiel, betrug in diesen 25 Jahren nur einmal 16, in einigen Jahren nur 3 und im Durchschnitt 7,28 Tage. Die Gesammt-

regenhöhe dieser Tage betrug innerhalb eines Jahres in maximo 445,62 mm (nämlich in demselben Jahre 1858, in welchem an 16 Tagen jedesmal mehr als 13 mm Regen fiel) und in minimo 48,91 mm, während der Durchschnitt der 25 Jahre = 150,54 mm betrug. Es fiel also, wenn dieser Schluss gestattet ist, mehr als ein Viertel der gesammten Jahresregenmenge an 7,28 von den 158,56 Regentagen. Im Jahre 1896 vom 1. Juli bis 1. December ist der Fall, dass mehr als 13,0 mm Regen fielen, siebenmal eingetreten.

Wenn wir nun also als ausgemacht annehmen, dass nur in seltenen Fällen die Canalisation durch ihre Nothauslässe eine Verschmutzung der öffentlichen Wasserläufe verursacht, so drängt sich uns die Frage auf, welche anderen Umstände wohl die Hauptschuld an der Verunreinigung der Wasserläufe tragen und besonders, wodurch gerade an bestimmten Stellen, z. B. an der Moltkebrücke, eine so starke Steigerung des Bacteriengehaltes regelmässig verursacht wird. Wie oben schon erwähnt, führt G. Frank letzteren Umstand darauf zurück, dass damals der Stadttheil Moabit noch nicht canalisirt war, und dass gerade bei jener Brücke ein grosser, alter Canal mündete, eine Ansicht, die uns jetzt als unhaltbar erscheint, nachdem dort die Canalisation durchgeführt ist. Vergleicht man die graphische Darstellung unserer Keimzählungen in Anlage 2 mit den gleichfalls dort eingetragenen Ergebnissen der Frank'schen Untersuchung, so kommt man zu dem interessanten Ergebnis, dass der Charakter beider Curven genau derselbe ist, indem dieselben je einen kleineren Gipfel bei der Ebertsbrücke und einen erheblich grösseren bei der Moltkebrücke aufweisen. Es kommen also von der Canalisation unabhängige locale Verhältnisse für die Spreeverunreinigung in Betracht. Diese sind aber fraglos zu suchen in dem gewaltigen Lösch- und Ladeverkehr, der sich zwischen der Kronprinzen- und der Moltkebrücke auf den mehrere hundert Meter langen, an beiden Seiten der Spree gelegenen Quaistrassen abspielt. Diese beiden Quaistrassen liegen so tief — ebenso wie die den angrenzenden Humboldhafen auf drei Seiten um-

gebenden Quais — dass sie an die Canalisation nicht angeschlossen werden konnten. Aller Schmutz und Staub, der sich beim Löschen und Laden entwickelt und entweder dort auf den Quaistrassen niederfällt oder sich der Luft mittheilt, sich aber über die senkrechten 3 bis 4 m hohen Ufermauern nur zum kleinsten Theile erheben kann, ferner alle Excremente der Zugthiere und wahrscheinlich auch sehr vieler Menschen, die dabei beschäftigt sind, wandert auf dem kürzesten Wege in den Strom. Wenn wir diese Erklärung annehmen, dass nicht der durchgehende Schiffahrtsverkehr, sondern das Löschen und Laden der Schiffe eine Hauptursache der Verschmutzung der von ihnen benutzten Wasserläufe ist, erklärt sich uns auch ungezwungen die Verminderung der durchschnittlichen Keimzahl an der Friedrichsbrücke und die Entstehung des kleineren Gipfels unserer Curve an der Ebertsbrücke. Oberhalb der Friedrichsbrücke wurde früher von einer grossen Zahl dort verankerter Kähne aus ein schwunghafter Handel mit Gemüsen, Fischen und namentlich Obst getrieben, der 1894 mit der Eröffnung des durch die Erbauung der Mühlendammschleuse ermöglichten Grossschiffahrtsweges ein Ende genommen hat. Oberhalb der Ebertsbrücke aber findet ebenfalls ein lebhafter Lösch- und Ladeverkehr im Hauptlauf der Spree statt, indem sich auf der sog. Museumsinsel (der Spitze der Schlossinsel) noch einige Speicher befinden. Ausserdem aber ist der dort mündende Kupfergraben schon in seinem Oberwasser (wo er sich als »Schleusencanal« von der Oberspree abzweigt) mit vielen, aus dem Verkehr der dort ankernden Schiffe stammenden Unreinigkeiten beladen, und ist in seinem Unterlaufe an vielen Stellen Träger des früher in der Spree oberhalb der Friedrichsbrücke betriebenen obenerwähnten Verkehrs.

Diese Auffassung hat nun auch durch nachträglich im Jahre 1897 ausgeführte Bacterienzählungen an Proben aus dem Landwehrcanal eine unerwartete Bestätigung erfahren. Während an sämmtlichen Untersuchungstagen des Jahres 1896 der Keimgehalt des Landwehrcanals fast durchgehends auf den zehnten Theil der früher von Frank gefundenen

Zahlen vermindert gefunden wurde, stellte sich im Sommer 1897 an fünf verschiedenen Tagen, an deren zwei es regnete (die Nothauslässe der Pumpstation waren sicher nicht geöffnet) ein ungewöhnlich hoher Keimgehalt heraus. An zwei von diesen fünf Tagen (18. und 19. VIII. 97) haben wir des Interesses halber nicht nur an der Schönebergerbrücke oberhalb des Hafenplatzes, sondern auch an der nächsten, etwa 120 bis 150 m unterhalb jenes Hafens befindlichen Brücke (Augustabrücke) schöpfen lassen und beidemale eine wohl nur durch den Ladeverkehr bedingte, sehr erhebliche Steigerung des Keimgehalts feststellen können.

Des Interesses wegen sind auf der nachstehenden Tabelle auch die an denselben Tagen in der Spree an der Oberbaum- und Moltkebrücke gefundenen Keimzahlen beigefügt:

Tabelle V.

Schöpfort	6. VII. 97 Tags vorher stark. Regen	16. VII. 1897 starker Regen	4. VIII. 1897 Sonnenschein	18. VIII. 1897 Sonnenschein	19. VIII. 1897 mässiger Regen
Oberbaumbrücke	106 800*	237 776*	147 220*	—	—
Moltkebrücke	25 600	370 800*	330 240*	21 276*	—
Schönebergerbrücke oberh. d. Hafenplatzes	812 000	184 170*	430 000*	175 650*	493 670*
Augustabrücke	—	—	—	200 616*	652 856*
Lichtensteinbrücke	828 000	140 800*	272 000*	45 864*	347 760*

* bedeutet: Mikroskopische Zählung nach 24 Stunden. Die nicht mit einem Stern versehenen Zahlen sind durch Lupenzählung nach 72 Stunden gewonnen.

Die Steigerung des Verkehrs auf den Wasserstrassen Berlins von 1885 bis 1895 ist aus der Anlage 4 ersichtlich. Daneben ist eine Nachweisung der vom 1. Juli bis 1. December 1896 zum Löschen und Laden in Berlin zugelassenen Fahrzeuge beigefügt.

Zum Schlusse sei es uns noch gestattet, noch kurz auf einige Wasseruntersuchungen aus dem Hauptlaufe der

Spree und der Havel einzugehen, die im Jahre 1897 gewissermaassen als Probe auf die Ergebnisse des vorigen Jahres angestellt wurden und zugleich durch vergleichende Zählung der sehr stark besäten, mit 0,5 ccm der Wasserprobe gegossenen Platten mittelst Mikroskops und der mit 100 facher Verdünnung gegossenen Platten mittelst der Lupe einen Anhaltspunkt dafür geben sollten, ob die Lupenzählung der mikroskopischen Zählung wirklich in nennenswerthem Grade unterlegen sei. Es mussten, wie ich hier gleich vorausschicken will, die mit 0,5 ccm der Wasserprobe versetzten Platten immer schon nach 24 Stunden mikroskopisch gezählt werden, während die mit 0,005 ccm (0,5 ccm der Verdünnung) der Probe gegossenen Platten meist erst am 3. oder 4. Tage gezählt wurden. Es stellte sich nun dabei heraus, dass die Zahlen im Allgemeinen sehr gut übereinstimmten und dass, während bei mehreren Hunderttausend Keimen in der Platte meist die mikroskopisch gezählte Platte einige Tausend Keime mehr verrieth, doch einigemale auch umgekehrt, durch die mit der Lupe gezählte Verdünnungsplatte ein um mehrere Tausende höherer Keimgehalt herauskam.

Leider liess es sich wegen Personalmangels nicht umgehen, dass fast immer einige Proben schon 4 bis 5 Stunden alt waren, ehe sie ins Laboratorium kamen, so z. B. am 16. Juli 1897 die Proben von der Oberbaum-, Jannowitzbrücke und Friedrichsbrücke, und am 4. August diejenigen von der Friedrichs-, Eberts- und Marschallbrücke.

Tabelle VI.

Entnahmestelle	6. VIII. 1897 Tags vorher Regen	16. VII. 1897 Morgens stark. Regen	4. VIII. 1897 Seit 3 Tagen kein Regen. Sonnenschein
Wuhle, 200 Schritte oberh. d. Mündung	—	1 140 000	65 000
Spree unterhalb Cöpenick	—	14 200	127 800
Spree, 200 Schritte unterh. d. Wuhlemündung	—	47 200	74 100
Spree unterhalb Nieder-Schöneweide .	—	35 400	7 928?
Hohenschönhauser Grenzgraben . .	1 304 000	660 000	221 160

(Fortsetzung der Tabelle VI.)

Entnahmestelle	6. VIII. 1897 Tags vorher Regen	16. VII. 1897 Morgens stark. Regen	4. VIII. 1897 Seit 3 Tagen kein Regen. Sonnenschein
Rummelsburger See (Mitte)	10 600	—	353 600
Spree unterhalb des Sees	—	40 150	107 520
Spree unterhalb Stralau	—	—	94 680
Spree bei der Oberbaumbrücke	106 800	237 776	147 220
Spree bei der Jannowitzbrücke	—	272 000	89 440
Spree bei der Friedrichsbrücke	—	345 000	267 500
Spree bei der Ebertsbrücke	—	382 000	408 030
Spree bei der Marschallbrücke	—	570 540	475 600
Spree bei der Moltkebrücke	25 600	370 800	330 240
Spree bei der Moabiterbrücke	—	117 920	338 600
Spree bei d. Charlottenburger Schleuse	261 200	255 192	—
Spree bei Fürstenbrunn	—	—	73 920
Spree kurz vor Spandau	—	121 000	64 080
Havel bei Pichelsdorf	—	146 600	123 520
Havel bei Gatow	—	163 200	9 034
Havel bei Cladow	—	—	1 200
Havel bei Sacrow	—	5 600	2 600
Havel in Potsdam unterhalb Nuthemündung	—	15 600	13 400
Nördliche Panke bei der Badbrücke	—	—	151 864
Nördl. Panke kurz vor der Mündung	—	1 050 000	41 760

Ausserdem wurde an diesen drei Tagen auch Wasser aus dem »Kuhgraben«, in den die geklärten Abwässer von Lichtenberg und wohl auch viele Abgänge von Rummelsburg fliessen, untersucht und darin am 6. Juli 1897 23 Millionen, am 16. Juli 1897 16½ Millionen und am 4. August 1897 19 Millionen entwickelungsfähige Keime pro Cubikcentimeter gefunden. Wenn man auch annimmt, dass die geringen Mengen Jauche, welche dieser Graben dem Rummelsburger See zuführt, durch dessen Wasser enorm verdünnt werden, und dass ausserdem der Rummelsburger See ein Sedimentirungsbecken darstellt, so ist es doch wünschenswerth, der grösseren Reinhaltung dieses Grabens näherzutreten.

2. Chemischer Theil.

Die Proben für die chemische Untersuchung des Spreewassers wurden — wie oben angegeben — gleichzeitig und an denselben Stellen entnommen wie die zur bacteriologischen Untersuchung dienenden; doch wurde im August und September nur je einmal untersucht, so dass im ganzen 9 Wasserserien geprüft wurden.

Die Untersuchung erstreckte sich auf die quantitative Bestimmung des Trockenrückstandes (bei 110°), des Chlors, des Calciums (beide titrimetrisch nach Mohr) und der sogenannten organischen Substanz (Methode von Kubel-Tiemann).

In einigen Fällen wurden auch die suspendirten Stoffe quantitativ festgestellt (bei 110° getrocknet und gewogen).

Die qualitativen Prüfungen erstreckten sich auf Ammoniak, salpetrige Säure (mit Jodzinkstärkelösung) und Salpetersäure (mit Diphenylamin).

Die chemische Untersuchung hatte natürlich die gleichen Fragen zu beantworten, welche die bacteriologische sich gestellt hatte, d. h. also erstens die Frage: Erfahren die chemischen Bestandtheile des Spreewassers auf seinem Laufe durch Berlin eine Zunahme, resp. treten neue chemische Stoffe auf? Zweitens: Hat sich die Quantität der vom Flusse mitgeschleppten chemischen Stoffe innerhalb der letzten zehn Jahre (1886—96) geändert? Drittens: Verdanken die gefundenen chemischen Werthe ihre Existenz irgendwelchen erkennbaren äusseren Einflüssen?

Eine Betrachtung der in der Anlage 1 zusammengestellten Ergebnisse der chemischen Untersuchung zeigt, dass sich — was die erste Frage anlangt — irgend eine Regelmässigkeit nicht erkennen lässt. Die Differenzen der Werthe sind relativ geringe, sodass uncontrolirbare, accidentelle Umstände bei der Wasserprobenentnahme u. a. m. den wahren Sachverhalt leicht verdecken können.

Unter solchen Umständen empfiehlt es sich, die Durchschnittszahlen zu berechnen, da man hoffen kann, dass sich bei ihnen die kleinen Zufälligkeiten compensiren und ausgleichen werden.

Berechnet man für den Trockenrückstand, die suspendirten Bestandtheile, die organische Substanz, das Chlor und das Calciumoxyd die Mittelwerthe für die einzelnen Entnahmestellen, so ergibt sich Folgendes:

Tabelle VII.

Trockenrückstand.

Nr.	Entnahmestelle	Theile in 100 000 Th. Wasser
0	Grünau	20,75
1	Oberbaumbrücke	21,83
2	Jannowitzbrücke	22,91
3	Friedrichsbrücke	23,03
4	Ebertsbrücke	23,90
5	Marschallbrücke	22,74
6	Moltkebrücke	23,02
7	Moabiterbrücke	22,98
10	Sacrow	23,48

Tabelle VIII.

Suspendirte Bestandtheile, organische Substanz[1], Chlor und Calciumoxyd.

Entnahmestelle Nr.	Suspend. Bestandtheile	Organ. Substanz	Chlor	Calciumoxyd
0	1,70	2,64	2,9	6,4
1	2,52	3,00	2,8	4,7
2	2,72	3,12	2,7	5,0
3	3,25	3,13	2,8	4,9
4	3,40	3,15	2,8	5,2
5	3,77	3,08	2,8	4,6
6	2,50	3,16	2,7	4,7
7	2,50	3,16	2,8	4,8
10	2,30	2,88	3,0	5,6

Es zeigen also die Werthe für den Trockenrückstand, die suspendirten Bestandtheile und die organische Substanz ein ziemlich gleichförmiges Wachsthum auf dem Wege durch die Stadt. Die Maxima der Werthe liegen zwar nicht überall an derselben

1) Verbrauch an $KMnO_4$ bei 10 Minuten langem Kochen.

Stelle, aber, wenn man diese Verhältnisse graphisch darstellt (s. Anlage 2), so zeigen die drei Curven ungefähr den gleichen Typus. Auffallend ist nur, dass der Durchschnittswerth für den Trockenrückstand in Grünau so hoch ausgefallen ist.

Für das Chlor und den Kalk lässt sich eine Steigerung der Quantitäten aber nicht nachweisen, wie ein Blick auf die Tabelle VIII lehrt.

Die Zahlen schwanken hier bald etwas aufwärts, bald etwas abwärts, jedenfalls ist das Spreewasser in Grünau und Sacrow nicht kalk- und chlorärmer als innerhalb Berlins, im Gegentheil, es finden sich an diesem Anfangs- und Schlusspunkt der Untersuchungsreihe die höchsten Chlor- und Kalkwerthe.

Es ist natürlich von Interesse, unsere Befunde der chemischen Wasseruntersuchung, ebenso wie es mit den bacteriologischen Befunden geschehen ist, in Vergleich zu stellen zu den von Frank[1]) im Jahre 1886 erhobenen. Die chemische Untersuchung ist damals in gleicher Ausdehnung angewendet worden wie die bacteriologische, doch hat der Verfasser ersichtlich auf die Resultate der letzteren einen erheblich viel grösseren Werth gelegt als auf die Ergebnisse der chemischen Untersuchung. Wie wir oben gesehen haben, lässt sich allerdings mit den Zahlen, so wie sie die Tabellen (Anlage 1) uns liefern, nicht viel anfangen. Die Berechnung der Durchschnittswerthe und deren Zusammenstellung liess aber schon eine gewisse Regelmässigkeit erkennen (s. die Curven in Anlage 2). Frank hat es nun unterlassen, solche Durchschnittswerthe zu berechnen, und wir haben uns deswegen nachträglich dieser Aufgabe unterzogen. Einmal wollten wir sehen, ob sich auch aus dem Gewirr seiner Zahlen etwas Greifbares und Gesetzmässiges extrahiren liesse, und dann wünschten wir seine Resultate mit den unseren besser vergleichen zu können. Es sei daher gestattet, an dieser Stelle die Durchschnittswerthe aus den chemischen Spreewasseruntersuchungen vom Jahre 1886 ebenfalls anzuführen:

---

1) Georg Frank, Die Veränderungen des Spreewassers, cit. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 3, S. 355.

Tabelle IX.

	Entnahmestelle	Trocken-rückstand	Organ. Substanz	Chlor	Kalk
1	Oberbaumbrücke	18,8	1,88	2,3	6,4
2	Jannowitzbrücke	18,5	1,97	2,2	6,4
3	Friedrichsbrücke	18,3	1,99	2,3	6,1
4	Ebertsbrücke	18,6	2,00	2,2	6,4
5	Marschallbrücke	18,5	2,19	2,2	6,4
6	Moltkebrücke	19,0	2,07	2,2	6,0
7	Moabiterbrücke	19,6	2,14	2,2	6,3
8	Sacrow	18,2	1,96	2,4	6,2

Wie leicht zu sehen, drücken sich in der Tabelle IX ganz ähnliche Verhältnisse aus, wie wir sie bei unseren Untersuchungen gefunden haben (s. Tab. VII und VIII). Auch hier findet ein Anwachsen der Zahlen für Trockenrückstand und organische Substanz (die suspendirten Bestandtheile hat Frank nicht bestimmt) statt, auch hier bleiben die Werthe für Kalk und Chlor ziemlich unverändert und zeigt letzteres seinen Maximalwerth in Sacrow.

Man ist demnach wohl berechtigt, die Ergebnisse, wie sie Tabelle VII und VIII liefern, nicht als zufällige anzusehen, wenn zwei, durch einen Zeitraum von zehn Jahren getrennte Untersuchungsreihen, so ähnliche Resultate liefern. Frank, der diese Durchschnittsberechnungen nicht ausgeführt hat, wird nach unserer Meinung dadurch zu falschen Schlussfolgerungen geführt. So behauptet er: »Der Chlorgehalt der Spree nahm, wie wir oben gesehen haben, im Verlaufe durch Berlin in unregelmässiger, aber deutlich zu erkennender Weise zu«. Diese Angabe lässt sich auf Grund des von ihm vorgelegten Zahlenmaterials nicht rechtfertigen.

Was das Auftreten von neuen chemischen Stoffen im Flusslaufe anlangt, so müssen wir hier des Ammoniaks, der salpetrigen Säure und der Salpetersäure erwähnen. Wie die analytischen Belege im Anlage 1 ersehen lassen, ist das Grünauer Wasser fast durchgängig frei von allen drei Stoffen, bei der Oberbaum-

brücke, unserer zweiten Schöpfstelle, lassen sie sich öfter constatiren. Treten sie einmal auf, so lässt sich ihr Vorhandensein meist durch den ganzen Flusslauf verfolgen, auch Sacrow pflegt dann häufig nicht davon frei zu sein.

Wir kommen jetzt zur Erörterung der zweiten Frage: Hat sich die Quantität der vom Flusse mitgeschleppten chemischen Stoffe innerhalb der zehn Jahre geändert? Vergleichen wir unsere und Frank's Durchschnittswerthe unter der berechtigten Voraussetzung, dass die mittlere Wasserführung der Spree in den Vergleichsjahren keine wesentliche Aenderung erfahren habe, miteinander (Tab. VII, VIII und IX), entnehmen wir ferner die Maximal- und Minimalzahlen für die einzelnen Stoffe aus den Tabellen von 1886 und 1896, so müssen wir sagen: Die absolute Quantität der mitgeschleppten Stoffe ist seit 1886 gestiegen.

Es betrugen 1886 die höchsten und niedrigsten Zahlen für Rückstand 22,0 und 16,5, für organische Substanz 2,50 und 1,49, für Chlor 3,0 und 1,8, für Kalk 10,5 und 4,1 und 1896 die höchsten und niedrigsten Zahlen für Rückstand 27,0 und 18,6, für organische Substanz 4,0 und 2,1, für Chlor 3,5 und 2,2, für Kalk 8,7 und 1,9.

Es sind also die Maxima und Minima, ausgenommen beim Kalkgehalt, überall erheblich höher gerückt.

Lässt sich ein Einfluss irgendwelcher äusserer Verhältnisse auf die Menge der chemischen Bestandtheile des Spreewassers constatiren?

Es ist schon oben auf die Schwierigkeiten hingewiesen worden, die sich der Lösung dieser Frage entgegenstellen.

Vornehmlich konnte festgestellt werden, dass ein Einfluss der bei starken Regenfällen in Wirksamkeit tretenden Nothauslässe aus den bacteriologischen Befunden nicht zu entnehmen sei.

Auch unsere chemischen Untersuchungen lassen einen solchen Einfluss nicht erkennen.

Ebensowenig lässt sich aus unseren Analysen ersehen, ob irgendwelche Abwässer besonderer Art (Industrieabwässer etc.)

dauernd oder zeitweise die Zusammensetzung des Spreewassers alteriren.

Eines aber lässt sich mit Sicherheit feststellen: der Einfluss der atmosphärischen Niederschläge.

Berechnet man nämlich die Durchschnittswerthe für die verschiedenen Entnahmezeiten, und zeichnet man dieselben, zugleich mit dem entsprechenden Pegelstande der Spree (Oberbaumbrücke) am Untersuchungstage, in Form einer Curve auf, so finden wir fast durchgehends hohe Durchschnittswerthe mit niedrigem Wasserstande und umgekehrt zusammenfallen. In der Anlage 3 findet man diese Curven für Chlor, Trockenrückstand und organische Substanz entworfen. Daselbst sind auch die Durchschnittszahlen der Keime pro Cubikcentimeter als Curve eingetragen, welche ein ähnliches Verhalten zeigen.

Diese Erscheinung ist ja nicht neu, sie ist z. B. vor längeren Jahren schon bei den chemischen Untersuchungen des Isarwassers constatirt worden.[1])

Der Eine von uns hat schon in dem ersten Theile dieser Arbeit seine Schlüsse aus den bacteriologischen Ergebnissen gezogen. Es sei gestattet, an dieser Stelle nun noch einmal die Ergebnisse der bacteriologischen und chemischen Untersuchung gemeinsam kurz zusammenzustellen, und im Anschluss daran zu prüfen, ob beide Untersuchungen die gleichen Schlussfolgerungen zulassen.

1. Der Keimgehalt des Spreewassers, sein Gehalt an Trockensubstanz, suspendirten Bestandtheilen und organischer Substanz wächst im Laufe des Flusses durch die Stadt an. Die höchsten Werthe liegen im allgemeinen an der Eberts-, Marschall- und Moltkebrücke.
2. Eine entsprechende Zunahme des Chlor- und Kalkgehalts ist nicht zu constatiren.
3. Die absolute Menge der mitgeführten Keime und der chemischen Bestandtheile hat sich — im Vergleich mit

1) Brunner und Emmerich, Die chemischen Veränderungen des Isarwassers, cit. Zeitschr. f. Biol., Bd. 14, S. 248.

den Untersuchungen aus dem Jahre 1886 — nicht vermindert, sie ist theilweise sogar grösser als früher.

4. Erkennbar beeinflusst werden die Mengenverhältnisse der Bacterien und der chemischen Stoffe nur durch die Veränderungen in der Flusswassermenge (Pegelstand).[1] —

Da das Steigen der Chlormenge in einem Flusse bekanntlich fast ausschliesslich durch Verunreinigung des Wassers mit Harn und Koth verursacht wird, so könnten wir auf Grund unserer chemischen Untersuchungen von vornherein sagen, dass die Verunreinigung der Spree durch einfliessende Canal- und Rieselwässer mindestens keine grosse sein kann, denn, wie gezeigt, lässt sich ein Anwachsen der Chlorwerthe in der Spree nicht constatiren. Der Kalkgehalt erscheint in der Stadt gegen Grünau und Sacrow vermindert, ändert sich aber in der Stadt selbst nicht wesentlich. Diese Thatsache, die übrigens mit manchen anderen Flusswasseruntersuchungsbefunden gut übereinstimmt, ist ein zweiter Beleg dafür, dass die Zumischung von dem doch meist stark kalkhaltigen Canal- resp. Rieselwasser hier keine Rolle spielen kann.

Wir können also den städtischen Abwässern die Schuld an der Verunreinigung der Spree nicht zuschieben und müssen für diese nach anderen Quellen suchen.

Solche sind, wie schon oben ausführlich erörtert ist, wohl mit Recht anzusprechen: Schiffsverkehr und Lösch- und Ladewesen.

Dadurch erklärt sich auch ungezwungen die Steigerung der absoluten Mengen chemischer Bestandtheile gegen 1886.

Die gleiche Ursache müssen wir heranziehen zur Erklärung der im Landwehrcanal gefundenen chemischen Werthe (Hafenplatz und Lichtensteinbrücke. Anlage 1 Nr. 8 und 9). Dieselben sind — vor allem wieder was Trockenrückstand, suspendirte Bestandtheile und organische Substanz anbelangt — fast durchweg

---

1) Bei den Bacterien lässt sich ausserdem noch der Einfluss der Winterkälte erkennen.

höher als die Zahlen der Spreewasseranalysen, ja sie erreichen bisweilen eine sehr beträchtliche Grösse. Hier staut sich eben der Schifffahrtsverkehr gewissermaassen an. Dazu kommt die relativ geringe Wasserführung des Landwehrcanals.

Auch in seinen äusseren Eigenschaften steht dieses Canalwasser hinter dem Spreewasser zurück. Letzteres ist zwar in der Stadt durchgehends gelblich verfärbt, trübe und setzt einen mässigen Bodensatz ab, das Landwehrcanalwasser aber ist, besonders im Hochsommer, intensiv gelb, stark getrübt und zeigt einen schmutzigen Bodensatz und gröbere Verunreinigungen. Das Wasser aus Grünau dagegen war meist farblos und klar und führte nur wenig suspendirtes Material. Aehnlich verhielt sich das Sacrower Wasser.

Wie schwierig es ist, selbst aus periodisch ausgeführten Flusswasseruntersuchungen, sichere Schlüsse zu ziehen, ist ja bekannt. Schwankt ja doch sogar die Qualität eines Wassers an verschiedenen Stellen desselben Querprofils erheblich.[1]) Viele uncontrolirbare Zufälligkeiten und Umstände verschleiern gewiss oft den wahren Sachverhalt.

So findet sich auch in unseren Beobachtungen manches Auffällige und nicht Erklärliche. Wenn wir trotzdem annehmen, dass unsere Durchschnittszahlen ein im wesentlichen richtiges Bild liefern, so bestärkt uns in dieser Anschauung die Thatsache, dass unsere bacteriologischen und chemischen Resultate im allgemeinen gut zu einander stimmen.

Das Eine ergeben unsere Untersuchungen jedenfalls mit Sicherheit: Trotz des Ausschlusses der Abwässer Berlins von der Spree, und trotz der Verbesserung ihrer Zuflüsse hat dieser Fluss eine Verbesserung seiner Beschaffenheit in bacteriologischer wie chemischer Hinsicht bis jetzt nicht aufzuweisen.

Gehört die Spree auch nicht gerade zu den widerlich verunreinigten Flüssen, so ist sie doch, ihrer Beschaffenheit nach, nicht nur zur Wasserversorgung, sondern auch zu manchen

1) Köhn, Ueber die Untersuchungsmethoden zur Feststellung der Selbstreinigung des Flusswassers. Deutsche Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspfl., Bd. XXV, S. 693.

anderen Nutzzwecken (z. B. Baden) fast untauglich geworden. Diese Zustände müssen auch eine dringliche Mahnung für die Verwaltung der Canalisation sein, in dem Bestreben, die Nothauslässe so selten wie möglich zur Entlastung der Canäle zu benutzen, fortzufahren.

Der Schiffsverkehr und das Lösch- und Ladewesen scheinen eine Hauptquelle der Verunreinigung unseres Flusses zu sein. Und im Verhältnis zur geringen Wassermasse ist der Schiffsverkehr enorm entwickelt; der Wasserweg bildet eine der wesentlichsten Verkehrsadern unserer Versorgung mit Nahrungsmitteln und Waaren aller Art. Da man ihn nicht reduciren oder unterbinden kann, so werden wir wohl dauernd mit der Verunreinigung rechnen müssen.

Wir werden aber in nächster Zeit noch durch weitere Untersuchungen darthun, nach welcher Richtung hin eine weitere Besserung der Flusswasserverhältnisse versucht werden kann.

Anlage 1.

1. Untersuchung am 14. Juli 1896.

Witterung: Tagesmittel 21,3° C. Seit 7 Tagen schönes Wetter mit sehr viel Sonnenschein. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,18. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,18 m. Unterwasser: 0,49 m.

Nummer	Entnahmestelle		Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calciumoxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt Keime
0	Grünau (Dahme)		21,8	0,3	2,8	5,3	2,1	—	1 700
1	Oberbaumbrücke	Spree	24,6	—	3,0	4,5	2,3	Spur	12 800
2	Jannowitzbrücke	Spree	26,3	—	2,8	4,5	3,0	»	16 000
3	Friedrichsbrücke	Spree	25,3	—	3,1	4,5	3,2	»	36 900
4	Ebertsbrücke	Spree	25,3	—	3,0	6,2	3,1	»	2 700
5	Marschallbrücke	Spree	25,3	—	3,0	4,5	3,2	»	6 700
6	Moltkebrücke	Spree	27,1	2,6	2,9	5,3	3,3	»	12 700
7	Moabiterbrücke	Spree	27,0	2,4	3,0	7,9	3,4	»	30 300
8	Hafenplatz	Landwehr-Canal	29,1	3,7	5,0	7,9	3,1	starke React.	15 900
9	Lichtensteinbrücke	Landwehr-Canal	26,9	1,9	3,5	6,2	3,1	»	11 600
10	Sacrow (Havel)		24,5	2,2	3,1	6,2	2,6	»	158

Salpetersäure: Spur in 2, 4, 5, 7. Salpetrige Säure: Spur in 3, 5, 6.

2. Untersuchung am 28. Juli 1896.

Witterung: Tagesmittel: 24,4° C. Seit 3 Tagen kein Regen, Wetter schön und heiss. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,23. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,23 m. Unterwasser: 0,45 m.

Nummer	Entnahmestelle	Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calciumoxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt. Keime
0	Grünau	21,1	0,4	2,9	7,9	2,6	—	7 000
1	Oberbaumbrücke	24,3	1,4	3,4	4,5	2,7	Spur	20 800
2	Jannowitzbrücke	25,8	2,6	3,3	7,0	3,0	»	6 340
3	Friedrichsbrücke	25,0	3,4	3,2	7,9	2,9	»	22 400
4	Ebertsbrücke	27,6	2,2	3,4	7,9	3,3	»	9 160
5	Marschallbrücke	26,5	3,4	3,3	5,3	3,0	»	4 970
6	Moltkebrücke	24,0	1,3	3,5	6,2	3,1	»	29 000
7	Moabiterbrücke	26,3	2,1	3,5	6,2	2,9	»	17 400
8	Hafenplatz	31,3	9,4	3,6	5,3	4,3	starke React.	38 400
9	Lichtensteinbrücke	27,5	3,2	3,4	7,0	3,5	»	35 800
10	Sacrow	23,8	1,8	3,3	5,3	2,8	—	7 000

Salpetersäure in 1, 2, 3, 7. Salpetrige Säure: Spuren in 1—7 und 10. Starke Reaction in 8 und 9.

3. Untersuchung am 11. August 1896.

Witterung: Tagesmittel: 17,8° C. Seit 3 Tagen kein Regen, Wetter schön, sonnig, warm. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,22. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,20 m. Unterwasser: 0,46 m.

Nummer	Entnahmestelle	Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calciumoxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt. Keime
0	Grünau	20,3	1,8	2,9	7,0	3,4	Spur	1 100
1	Oberbaumbrücke	24,0	2,5	3,3	5,3	3,6	»	35 400
2	Jannowitzbrücke	24,0	2,8	3,3	5,3	3,6	»	77 400
3	Friedrichsbrücke	21,3	3,0	3,3	5,3	3,8	»	84 600
4	Ebertsbrücke	25,0	3,5	3,3	5,3	4,0	»	152 200
5	Marschallbrücke	25,0	4,7	3,5	3,6	3,7	»	149 600
6	Moltkebrücke	24,5	2,2	3,4	3,6	3,6	»	936 000
7	Moabiterbrücke	24,5	1,8	3,4	5,3	3,6	»	81 000
8	Hafenplatz	29,0	8,2	3,5	6,2	4,4	»	7 200
9	Lichtensteinbrücke	24,1	0,9	3,6	5,3	3,7	»	65 200
10	Sacrow	23,1	1,8	3,2	8,7	3,6	»	4 200

Salpetersäure in 1—10. Salpetrige Säure 1—9.

4. Untersuchung am 25. August 1896.

Witterung: Tagesmittel: 15,0° C. Seit Tags vorher viel Regen, seit 3 Tagen kühleres Wetter. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,28. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,27 m. Unterwasser: 0,47 m.

Nummer	Entnahmestelle	Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calciumoxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt. Keime
0	Grünau	Chemische Untersuchung nicht ausgeführt.						540
1	Oberbaumbrücke							23 400
2	Jannowitzbrücke							57 400
3	Friedrichsbrücke							34 400
4	Ebertsbrücke							231 400
5	Marschallbrücke							53 400
6	Moltkebrücke							41 200
7	Moabiterbrücke							84 600
8	Hafenplatz							12 600
9	Lichtensteinbrücke							5 200
10	Sacrow							3 800

5. Untersuchung am 8. September 1896.

Witterung: Tagesmittel: 15,0° C. Bis 48 Stunden vorher starker Regen, kühles Wetter. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,24. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,24 m. Unterwasser: 0,51 m.

Nummer	Entnahmestelle	Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calciumoxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt. Keime
0	Grünau	Chemische Untersuchung nicht ausgeführt.						600
1	Oberbaumbrücke							10 400
2	Jannowitzbrücke							16 400
3	Friedrichsbrücke							14 400
4	Ebertsbrücke							17 200
5	Marschallbrücke							15 200
6	Moltkebrücke							14 200
7	Moabiterbrücke							17 600
8	Hafenplatz							22 500
9	Lichtensteinbrücke							43 540
10	Sacrow							186

6. Untersuchung am 22. September 1896.

Witterung: Tagesmittel: 11,3° C. Gestern mehrere kurze Regenschauer, Wetter trübe, seit 3 Tagen kühler. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,31. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,30 m. Unterwasser: 0,57 m.

Nummer	Entnahmestelle	Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calcium-oxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt. Keime
0	Grünau	21,0	4,4	2,8	6,5	2,7	fehlt	400
1	Oberbaumbrücke	23,3	4,0	2,7	4,8	2,9	Spur	29 400
2	Jannowitzbrücke	24,3	3,4	2,7	6,5	2,6	fehlt	27 000
3	Friedrichsbrücke	23,3	4,5	3,0	5,7	3,0	»	13 000
4	Ebertsbrücke	23,6	5,2	3,0	5,7	2,6	Spur	8 020
5	Marschallbrücke	22,0	4,0	2,9	4,8	2,7	fehlt	7 400
6	Moltkebrücke	22,0	5,2	2,7	4,8	2,6	»	5 400
7	Moabiterbrücke	21,3	5,0	2,9	4,0	2,6	»	8 000
8	Hafenplatz	24,0	4,2	3,0	5,7	2,7	Spur	8 400
9	Lichtensteinbrücke	25,6	5,9	3,3	6,5	2,6	»	20 600
10	Sacrow	21,3	4,9	3,0	5,7	2,7	fehlt	800

Salpetersäure in 2, 3, 5—7, 9 und 10. Salpetrige Säure in 1—9

7. Untersuchung am 6. October 1896.

Witterung: Tagesmittel: 10,5° C. Gestern längerer schwacher Regen und etwas Hagel, sonst trocken, trübe und kühl. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,28. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,26 m. Unterwasser 0,54 m.

Nummer	Entnahmestelle	Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calcium-oxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt. Keime
0	Grünau	18,6	—	2,8	7,0	2,8	fehlt	600
1	Oberbaumbrücke	21,0	—	2,7	6,2	2,7	»	11 000
2	Jannowitzbrücke	21,3	—	2,7	5,3	2,8	»	13 200
3	Friedrichsbrücke	21,6	—	2,8	7,0	2,6	»	7 100
4	Ebertsbrücke	23,6	—	2,6	6,2	2,9	»	13 400
5	Marschallbrücke	22,3	—	2,7	6,2	3,0	»	11 700
6	Moltkebrücke	22,1	—	2,7	6,2	2,9	»	18 200
7	Moabiterbrücke	21,0	—	2,7	3,6	2,7	»	10 000
8	Hafenplatz	22,3	—	2,7	4,5	2,7	»	12 800
9	Lichtensteinbrücke	23,3	—	2,9	5,3	3,3	»	45 200
10	Sacrow	22,5	—	3,1	4,5	2,5	»	110

Salpetersäure in 1, 4, 5, 10. Salpetrige Säure in 10.

8. Untersuchung am 20. October 1896.

Witterung: Tagesmittel: 8,2° C. In letzter Zeit viel Regen ausser gestern, wenig Sonne und fallende Wärme. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,31. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,27 m. Unterwasser: 0,62 m.

Nummer	Entnahmestelle	Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calcium-oxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt. Keime
0	Grünau	21,0	—	2,9	6,2	2,4	fehlt	1 400
1	Oberbaumbrücke	21,0	—	2,4	5,3	2,7	»	5 300
2	Jannowitzbrücke	24,8	—	2,5	4,5	3,0	»	5 800
3	Friedrichsbrücke	21,6	—	2,6	3,6	2,4	»	2 200
4	Ebertsbrücke	21,6	—	2,4	6,2	2,1	»	2 400
5	Marschallbrücke	22,1	—	2,5	7,0	2,9	»	23 000
6	Moltkebrücke	21,3	—	2,4	3,6	2,7	»	4 400
7	Moabiterbrücke	21,6	—	2,6	5,3	2,8	»	16 000
8	Hafenplatz	23,3	—	2,7	5,3	2,7	»	37 000
9	Lichtensteinbrücke	22,6	—	2,5	4,5	2,8	»	13 400
10	Sacrow	21,6	—	2,8	5,3	2,3	»	4 400

Salpetersäure in 1, 3, 7, 9. Salpetrige Säure fehlt.

9. Untersuchung am 3. November 1896.

Witterung: Tagesmittel: 5,0° C. Wetter trübe und bis auf letzte Nacht trocken. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,26. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,22 m. Unterwasser: 0,62 m.

Nummer	Entnahmestelle	Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calcium-oxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt. Keime
0	Grünau	20,0	—	3,0	6,2	2,5	fehlt	200
1	Oberbaumbrücke	19,0	—	2,7	3,6	3,1	»	2 800
2	Jannowitzbrücke	20,8	—	2,6	6,2	3,2	»	11 500
3	Friedrichsbrücke	26,6	—	2,7	3,6	3,3	»	3 000
4	Ebertsbrücke	26,8	—	2,8	2,8	3,2	»	3 400
5	Marschallbrücke	21,0	—	2,8	3,6	3,2	»	17 500
6	Moltkebrücke	22,3		2,4	3,6	3,2	»	1 600
7	Moabiterbrücke	21,6	—	2,8	3,6	3,2	»	3 000
8	Hafenplatz	22,5	—	2,9	3,6	3,1	»	19 200
9	Lichtensteinbrücke	—	—	—	—	4,0	»	15 000
10	Sacrow	25,0	—	3,0	5,3	2,8	Spur	800

Salpetersäure in 1—10. Salpetrige Säure in 7 und 8.

10. Untersuchung am 17. November 1896.

Witterung: Tagesmittel: — 1,1° C. Seit 5 Tagen trocken, bedeckt, seit 3 Tagen geringer Frost. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,26. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,26 m. Unterwasser: 0,63 m.

Nummer	Entnahmestelle	Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calciumoxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt. Keime
0	Grünau	22,0	1,6	2,8	6,2	2,6	fehlt	2 200
1	Oberbaumbrücke	20,3	2,2	2,2	5,3	3,5	»	3 200
2	Jannowitzbrücke	18,6	2,1	2,2	3,6	3,4	»	4 200
3	Friedrichsbrücke	—	2,1	2,3	3,6	3,6	»	2 000
4	Ebertsbrücke	21,3	2,7	2,2	5,3	3,7	»	15 400
5	Marschallbrücke	21,0	3,0	2,3	4,5	2,9	»	2 800
6	Moltkebrücke	21,3	1,2	2,3	5,3	3,7	»	2 200
7	Moabiterbrücke	20,6	1,6	2,3	4,5	3,7	»	4 800
8	Hafenplatz	21,8	1,2	2,4	5,3	3,8	»	3 400
9	Lichtensteinbrücke	24,0	1,5	2,4	3,6	3,9	»	6 400
10	Sacrow	25,3	0,8	2,6	6,2	3,3	Spur	1 400

Salpetersäure in 2, 5, 8, 10. Salpetrige Säure in 10.

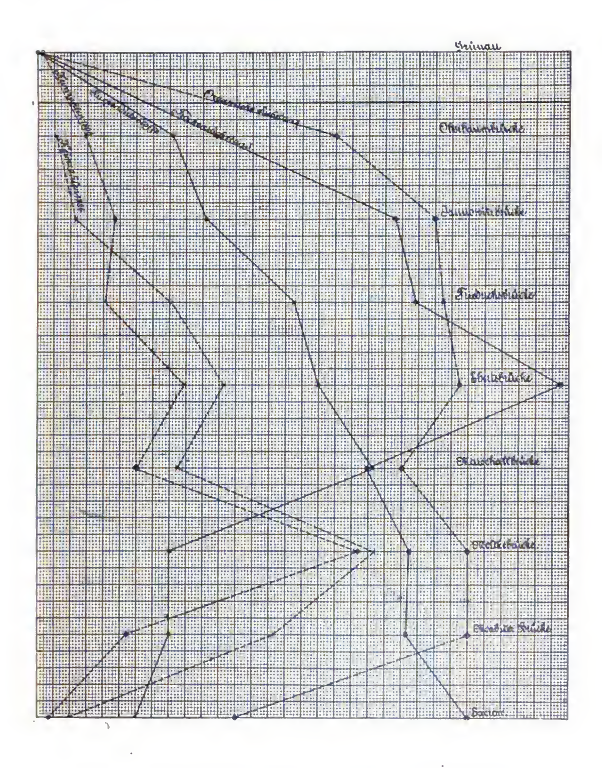
11. Untersuchung am 1. December 1896.

Witterung: Tagesmittel: + 1,5° C. Seit 4 Tagen mehrfache Schneefälle, besonders gestern, und schwacher Frost. Spreewasserstand: Oberbaumbrücke: 2,29. Damm-Mühlen: Oberwasser: 2,26 m. Unterwasser: 0,57 m.

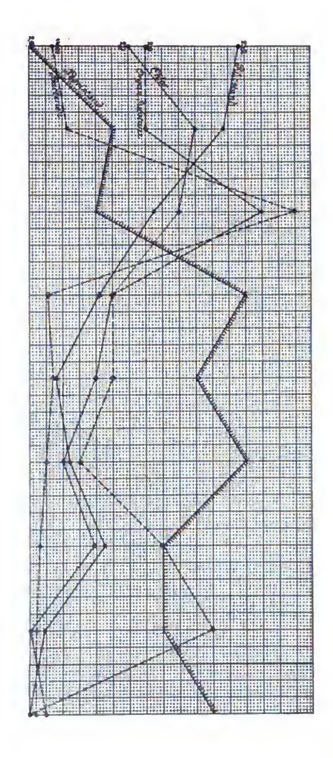
Nummer	Entnahmestelle	Rückstand	Suspendirte Stoffe	Chlor	Calciumoxyd	Organische Substanz	Ammoniak	Anzahl der aus 1 ccm Wasser in Gelatine entwickelt. Keime
0	Grünau	21,0	—	3,0	5,3	2,7	fehlt	400
1	Oberbaumbrücke	19,0	—	2,4	2,8	3,5	»	4 500
2	Jannowitzbrücke	20,3	—	2,3	2,8	3,5	»	3 200
3	Friedrichsbrücke	19,6	—	2,4	3,6	3,4	»	4 320
4	Ebertsbrücke	20,3	—	2,3	1,9	3,5	»	2 400
5	Marschallbrücke	19,5	—	2,3	1,9	3,2	»	10 000
6	Moltkebrücke	22,6	—	2,4	3,6	3,4	»	5 800
7	Moabiterbrücke	23,0	—	2,3	2,8	3,6	»	4 800
8	Hafenplatz	23,0	—	2,5	3,6	3,7	»	2 400
9	Lichtensteinbrücke	23,3	—	2,4	3,6	3,6	»	4 400
10	Sacrow	24,3	—	2,6	3,6	3,4	»	3 400

Salpetersäure fehlt. Salpetrige Säure: Spur in 10.

Anlage 2.



Anlage 3.



Anlage 4.

Nachweisung des Verkehrs auf den Wasserstrassen Berlins.

A. Segelschiffe.

Jahr	Gewicht der Ladung in Tonnen				Zahl der Schiffe				
	Durchgegangen	Angekommen	Abgegangen	Zusammen	Durchgegang.	Angekommen	Abgegangen	Zusammen	Davon beladen
1885	308 883	3 406 283	298 146	4 013 312	3 956	35 420	35 074	74 450	39 509
1894*	649 942	4 483 518	461 384	5 595 298	5 692	34 985	34 372	75 049	41 443
1895	480 607	4 596 614	448 471	5 525 692	4 066	34 546	33 926	72 538	39 970

* Nach Eröffnung der neuen Mühlendammschleuse.

B. Dampfer.

Jahr	Personendampfer		Schleppdampfer				Kettenschiffe			Güterdampfer					
	Angekommen	Abgegangen	Durchgefahren	Angekommen	Abgegangen	Zusammen	Angekommen	Abgegangen	Zusammen	Durchgef.	Angekommen	Abgegangen	Zusammen	Davon beladen	Gewicht der Ladung in Tonnen
1885	4217	4219	59	786	750	1 595	479	479	958	—	457	458	915	709	36 599
1895	7344	7340	93	5466	5469	11 028	—	—	—	2	628	631	1261	1152	78 092

C. Flösse.

Jahr	Durchgefahren		Angekommen	
	Zahl	Tonnen	Zahl	Tonnen
1885	—	15 501	—	16 548
1895	20	2 828	116	10 942

Nachweisung der durch die Berliner Schleusen vom Juli bis December 1896 gegangenen Schiffsgefässe und Flosshölzer.

Name der Schleuse	Juli		August		Septemb.		October		Novemb.		Dec.	
	Schiffe	Flösse	Schiffe	Flösse	Schiffe	Flösse	Schiffe	Flösse	Schiffe	Flösse	Schiffe	Flösse
Stadtschleuse (Kupfergraben) .	904	762	801	223	943	161	1136	237	1155	95	139	—
Mühlendamm-schleuse (Spree)	2694	92	2560	12	2243	6	2061	70	1549	82	784	8
Unterschleuse (Landwehrcanal)	1963	645	1884	947	1759	1164	1545	734	1199	172	382	—
Oberschleuse (Landwehrcanal)	1352	645	1330	934	1108	1084	1046	806	992	172	358	—
Cöpenick. Schleuse (Louisenstädtischer Canal) . .	225	—	230	—	316	57	227	—	181	—	20	—

Weitere Untersuchungen über die bacterienfeindlichen Stoffe der Leukocyten.

Von

Privatdocent Dr. **A. Schattenfroh,**
Assistent am Institute.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Wien.)

Einleitung.

Im 31. Bande dieses Archivs wurden von uns eine Reihe von Untersuchungen mitgetheilt, welche die bacterienfeindlichen Wirkungen der polynucleären Leukocyten zum Gegenstande hatten und sich zumeist mit der Wirksamkeit der beim Zugrundegehen der Zellen abgegebenen bactericiden Stoffe beschäftigten. Unsere Arbeiten brachten einmal zum ersten Male den strikten Beweis ihrer Existenz und machten weiters auf einige Eigenthümlichkeiten derselben hinsichtlich ihres Verhaltens einzelnen Bacterienarten gegenüber, hinsichtlich ihrer Widerstandsfähigkeit bei Einwirkung höherer Temperaturen u. s. w. aufmerksam. Besonders hervorgehoben wurde, dass sich in mancherlei Beziehung Unterschiede ergeben zwischen der Wirkungsweise des activen Blutserums (der »Alexine« Buchner's) und jener der Leukocytenstoffe; es wurde jedoch die Vermuthung ausgesprochen und dieselbe experimentell gestützt, dass die Differenzen keine principiellen seien, so dass vorläufig kein Grund vorläge, die polynucleären Leukocyten nicht als die Spender der Serumalexine anzusprechen.

Weiters wurde betont, dass das Nucleohiston, der Hauptbestandtheil der Leukocytentrockensubstanz, den bactericiden Wirkungen derselben vermuthlich vollkommen ferne steht und wohl zu jenen Stoffen zu zählen ist, die gelegentlich „antibactericid“ wirken.

Schliesslich war es uns gelungen, Extracte der bactericiden Stoffe zu gewinnen, wenngleich die hiebei in Anwendung gekommenen Methoden in Bezug auf die Gründlichkeit der Extraction noch manches zu wünschen übrig liessen.

Als Ergänzung zu den damals veröffentlichten Versuchen stellten wir nun weiter fest — und hierüber soll zunächst berichtet werden —, wie sich die bactericiden Leukocytenstoffe gegenüber dem Salzgehalte, resp. der Salzverarmung ihres Mediums verhielten, ferner, ob sich Beziehungen ergäben zwischen ihrer Wirksamkeit und der globuliciden Action des Blutserums.

Im zweiten Theile dieser Abhandlung sollen dann die seit unserer ersten Mittheilung erschienenen einschlägigen Publicationen anderer Autoren, eingehend besprochen und daran unsere eigenen kritischen Versuche — soweit wir sie zur Klärung zweifelhafter Verhältnisse für nöthig hielten — angereiht werden.

I. Eigene Untersuchungen.

A. Die Beziehungen der Wirkungsweise der bactericiden Leukocytenstoffe zum Salzgehalte des Mediums.

Bekanntlich hat Buchner für die Serumalexine gefunden, dass sie zur Entfaltung ihrer vollen Wirksamkeit an einen gewissen Salzgehalt ihres Mediums gebunden sind; wurden aus dem Serum die Salze durch Dialyse entfernt, oder wurde dieses mit destillirtem Wasser verdünnt, woraus sich eine Verringerung der Salzconcentration ergab, so war die bactericide Wirkung desselben gegenüber einer Cultur des Typhusbacillus so gut wie erloschen. War somit die physiologische Salzconcentration überhaupt zum Zustandekommen der bactericiden Wirkung nöthig, so zeigte sich weiters eine günstige Beeinflussung der Alexine

durch die Salze in dem Sinne, dass sie bei über die Norm erhöhtem Salzgehalte höheren Temperaturen gegenüber widerstandsfähiger wurden.

Buchner erklärt den Einfluss des Salzgehaltes auf die Alexinwirkung aus dem Bau des activen Eiweissmoleküls: durch Verringerung oder völlige Entziehung der Salze werde die normale Zusammensetzung desselben — insoferne ja ein Theil der Salze zweifellos in engster Verbindung mit dem organischen Eiweissmolekül sich befände — gestört; die Folge davon sei die stark verminderte oder völlig aufgehobene bactericide Leistung.

Die Wirkung der Salze, die sich auf Erhöhung der Inactivirungstemperatur erstrecke, käme durch eine energischere Bindung des Lösungswassers zustande, so dass bei gesteigertem Salzgehalte der Umgebungsflüssigkeit die Alexine gleichsam in trockenerem Zustande — nach Analogie anderer Enzyme oder Fermente — weniger leicht durch hohe Temperaturen geschädigt würden.

Diese gewiss höchst interessanten Beziehungen veranlassten uns auch hinsichtlich der bactericiden Leukocytenstoffe der Frage näher zu treten. Wir vermutheten ähnliche Verhältnisse, wie sie für die Serumalexine gelten, anzutreffen, da sich bei unsern früheren Untersuchungen schon einmal anscheinend Anhaltspunkte hiefür ergeben hatten.

Wir hatten erfahren, dass die in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Leukocyten Temperaturen, bei welchen Vollexsudat fast stets inactivirt wird, ohne nennenswerthe Schädigung ertrugen und dachten u. a. daran, dass vielleicht in ähnlicher Weise wie für die Serumalexine hier ein conservirender Einfluss des relativ hohen Kochsalzgehalts sich geltend machen könne. —

Systematische Versuche haben nun ergeben, dass die bactericide Wirkung der Leukocytenstoffe von dem Salzgehalte des Mediums völlig unabhängig zu sein scheint, indem sie auch dann in ungeminderter Stärke einsetzt, wenn man statt physiologischer Salzlösung reines Wasser verwendet.

Wäscht man die Leukocyten nach dem Abcentrifugiren vom Exsudatplasma mit destillirtem Wasser — wobei sich die gequollenen Zellen schwerer als gewöhnlich absetzen — und schwemmt man sie gleichfalls darin auf, so wirken sie nach erfolgtem wiederholten Einfrieren und Aufthauen ebenso wie nach $^1/_2$stündigem Erwärmen auf 55 bis 60° C. auf das bact. coli und den Staphylococcus pyog. aur. kräftig bactericid. Diese Wirkung macht sich um so stärker geltend, als die salzfreien resp. salzarmen Flüssigkeiten nur einen schlechten Nährboden abgeben, sodass in den Controlproben, den — eventuell noch erwärmten — Filtraten der Zellflüssigkeiten, nur eine kümmerliche Entwicklung der eingesäten Bakterien stattfand.

1. Versuch.

Leukocyten aus einem Pleuraexsudat von einem jungen Kaninchen werden mit destillirtem Wasser gewaschen, hierauf in destillirtem Wasser aufgeschwemmt und 3mal eingefroren und aufgethaut (I). Ein Theil der Flüssigkeit wird filtrirt und $^1/_2$ Stunde auf 85° C. erwärmt (II). Ausgesät: Staphylococcus pyog. aur. (in dest. Wasser suspend.).

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
Ia	3 970	210	0
Ib	2 950	51	3
IIa	3 700	3 480	5 980
IIb	3 580	2 750	8 160

2. Versuch.

Gleiche Anordnung wie Versuch 1. Ausgesät: Bact. coli.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	Gleich nach Aussaat	Nach		
		3 Std.	8 Std.	24 Std.
Ia	5 900	730	15	0
Ib	5 650	210	30	0
IIa	6 180	6 560	13 900	∞
IIb	6 540	6 900	7 100	∞

3. Versuch.

Mit destillirtem Wasser gewaschene Leukocyten werden in destillirtem Wasser suspendirt, 1/2 Stunde auf 55° C. erwärmt (I). Ein Theil wird filtrirt (II); eine Portion des Filtrats wird 1/2 Stunde auf 85° C. erwärmt (III). Ausgesät: Bact. coli.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
Ia	9 400	92	52
Ib	9 830	31	0
IIa	9 150	860	490
IIb	9 900	610	300
IIIa	8 260	10 600	18 200
IIIb	8 490	8 550	12 300

In letzterem Versuche hatte auch das zellfreie Filtrat (II) bactericid gewirkt. Die schlechte Eignung dieser Flüssigkeiten als Nährboden für das bact. coli liess offenbar die bactericide Wirkung hier so deutlich hervortreten, während in den Kochsalz extracten nur in den seltensten Fällen eine solche erkennbar war (vgl. d. Archiv Bd. 31, S. 64).

In ganz analoger Weise wie die Zellen, zeigten sich die zellfreien Extracte und bei dieser Versuchsanordnung auch das Exsudatplasma[1]) in ihrer bactericiden Wirkung unabhängig vom Salzgehalte.

Für die Extracte war wegen der Minderwerthigkeit der uns zur Verfügung stehenden Methoden der Nachweis nur zum Theil zu führen u. zw. nur für den Staphylococcus. Das Exsudatplasma jedoch wies auch anderen Bacterien gegenüber das besprochene Verhalten auf.

Wir begnügten uns hiebei, die Flüssigkeiten durch Verdünnen mit Wasser salzärmer zu machen und verzichteten auf die Dialyse. Letztere eignet sich für die plasmatischen Flüssigkeiten deshalb nicht besonders, weil hiebei voluminöse Fällungen entstehen, die im Versuche stören.

1) Vgl. S. 142.

4. Versuch.

Isolirte Leukocyten werden mit im Verhältnisse von 1:5 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntem inactivirten Exsudatplasma wiederholt eingefroren; das Filtrat wird zum Theil mit physiol. Kochsalzlösung (I), zum Theil mit dest. Wasser im Verhältnisse von 1:6 verdünnt (III). Von beiden Flüssigkeiten wird ein Theil 1 Stunde auf 68° C. erwärmt (II und IV). Ausgesät: Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		$3^1/_2$ Std.	9 Std.
Ia	3 900	2 660	2 430
Ib	3 420	1 900	2 900
IIa	3 160	5 800	sehr viele
IIb	4 100	6 100	sehr viele
IIIa	3 660	1 220	1 580
IIIb	3 650	910	730
IVa	3 620	3 980	sehr viele
IVb	3 300	4 100	sehr viele

Zwei weitere Versuche, mit unwesentlichen Modificationen angestellt, verliefen in analoger Weise.

5. Versuch.

Exsudatplasma wird einmal mit phys. Kochsalzlösung (I). anderseits mit destillirtem Wasser im Verhältnisse von 1:10 verdünnt (III); von beiden wird eine Portion $^1/_2$ Stunde auf 60° C. erwärmt (II und IV). Ausgesät: Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		4 Std.	10 Std.
Ia	7 600	250	360
Ib	7 100	190	520
IIa	7 800	fortschreitende Vermehrung	
IIb	7 840	fortschreitende Vermehrung	
IIIa	6 980	95	120
IIIb	7 150	86	111
IVa	6 800	fortschreitende Vermehrung	
IVb	7 640	fortschreitende Vermehrung	

Drei weitere Versuche, wie Versuch 5 angestellt, ergaben stets dasselbe Resultat.

Bei allen war die bactericide Wirkung in den mit destillirtem Wasser versetzten Proben eher eine stärkere als in den Controlflüssigkeiten, was in gleicher Weise wie bei den früheren Versuchen mit den zellhaltigen Flüssigkeiten sich erklärt.

6. Versuch.

In gleicher Weise wie Versuch 5 angeordnet. Ausgesät: Bact. coli.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	7 Std.
Ia	2 860	260	560
Ib	2 530	195	320
IIa	?	fortschreitende Vermehrung	
IIb	2 730	fortschreitende Vermehrung	
IIIa	2 220	125	160
IIIb	2 800	88	72
IVa	2 410	fortschreitende Vermehrung	
IVb	2 400	fortschreitende Vermehrung	

Den günstigen Einfluss des physiologischen Salzgehalts auf die Alexinwirkung kann man sich auch so vorstellen, dass die Conservirung des activen Eiweisses in einem Medium von normalem Salzgehalte besser erfolge als in einem, das künstlich salzarm gemacht wurde. Einer solchen Vermuthung hat schon Buchner bei seinen diesbezüglichen Untersuchungen gelegentlich Raum gegeben. Diese Vorstellung würde weiter zur Annahme führen, dass an sich zum Zustandekommen einer bactericiden Wirkung nicht unbedingt der physiologische Salzgehalt nöthig ist etwa in dem Sinne, dass ein salzarmes Eiweissmolekül vollständig die Fähigkeit einer bactericiden Wirkung eingebüsst hätte; man würde die Abnahme der bactericiden Fähigkeit dann darauf beziehen, dass die Eiweisskörper, wenn sie so abnormen, von den physiologischen völlig abweichenden Salzconcentrationen ausgesetzt sind, rascher ihre vitalen Eigenschaften verlieren und unwirksam werden.

Auf Grund dieser Erwägungen konnten wir noch an die Möglichkeit glauben, dass vielleicht erst dann der Einfluss der

Salzverarmung den Leukocytenstoffen gegenüber sich geltend mache, wenn er längere Zeit hindurch bestanden habe: Wir stellten demnach die Versuche in der Weise an, dass wir sowohl die isolirten Leukocyten, als auch das Exsudatplasma und die Zellextracte 4 bis 5 Tage, später sogar 2 bis 8 Wochen in Berührung mit dem destillirten Wasser liessen, ehe wir die bactericide Wirkung prüften. In diesem Falle, wo es sich um die conservirende Wirkung der Salze handelte, konnten wir, um den bacterienschädigenden Einfluss des Salzmangels zu vermeiden, für den eigentlichen Versuch die ursprüngliche physiologische Concentration durch Zusatz einiger Tropfen einer starken Kochsalzlösung wieder herstellen. Zum Vergleiche stellten wir Controlversuche mit Zellen, Plasma und Extracten an, die von vornherein in physiologischer Salzlösung aufgeschwemmt resp. damit verdünnt wurden.

Für die Zellkochsalzflüssigkeiten ist freilich hiedurch nicht völlige Gleichheit schliesslich erzielt, indem die Zellen in destillirtem Wasser viel schlechter macerirt werden, als in physiol. Kochsalzlösung. Dies suchten wir dadurch wieder auszugleichen, dass wir nicht unmittelbar, nachdem die Flüssigkeiten auf physiologische Salzconcentration gebracht waren, den bactericiden Versuch begannen, sondern mindestens einen Tag weiter zuwarteten, um es möglich zu machen, annähernd gleichviel Substanz in den Versuchsproben in Lösung zu bekommen.

Hiebei stellte sich nun heraus, dass in den Zellflüssigkeiten und den künstlichen Extracten auch ein conservirender Einfluss des normalen Salzgehaltes nicht zum Ausdrucke kam. Stets war es gleichgiltig, ob physiol. Kochsalzlösung oder reines Wasser verwendet worden war. Nur das Exsudatplasma, das sich in den früheren Versuchen (5) analog den Zellen verhalten hatte, machte bei dieser empfindlicheren Methodik in einzelnen Fällen hievon eine Ausnahme.

In 2 Versuchen nämlich blieb die bactericide Wirkung in den mit phys. Kochsalzlösung verdünnten Proben besser erhalten; in 6 andern auf gleiche Weise angestellten war dieser Unterschied nicht ausgeprägt.

7. Versuch.

Mit destillirtem Wasser gewaschene Leukocyten werden in destillirtem Wasser suspendirt und 5 Tage darin bei niedriger Temperatur belassen. Hierauf wird die Flüssigkeit auf einen Gehalt von 0,6% Na Cl gebracht und wiederholt eingefroren und aufgethaut (I). Ein Theil wird filtrirt (II). Ausgesät: Bact. coli.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		$2^1/_2$ Std.	8 Std.
I a	5 960	210	0
I b	5 700	121	12
II a	6 400	fortschreitende Vermehrung	
II b	6 620	fortschreitende Vermehrung	

8. Versuch.

Mit destillirtem Wasser gewaschene Leukocyten werden zur Hälfte in physiologischer Kochsalzlösung, zur Hälfte in destillirtem Wasser 4 Tage gehalten. Dann wird so verfahren wie oben, nur werden die Zellen statt des Einfrierens $^1/_2$ Stunde auf 55° erwärmt. Ein Theil wird wieder filtrirt. Ausgesät: Bact. coli.

Zellen (urspr. in Kochsalzlösung) . . I,
Filtrat davon . . . . II,
Zellen (urspr. in dest. Wasser) . . . III,
Filtrat davon . . . . IV,

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	$8^1/_2$ Std.
I a	8 560	26	10
I b	9 100	19	0
II a	8 960	fortschreitende Vermehrung	
II b	8 540	fortschreitende Vermehrung	
III a	9 600	12	0
III b	8 360	3	0
IV a	8 880	fortschreitende Vermehrung	
IV b	8 100	fortschreitende Vermehrung	

9. Versuch.

Anordnung wie in Versuch 8. Nur bleiben die Zellen 8 Wochen in phys. Kochsalzlösung resp. in destillirtem Wasser und werden so wie in Versuch 7 wiederholt eingefroren und aufgethaut. Ausgesät: Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	$9^1/_2$ Std.
I a	3 900	190	590
I b	2 950	230	111
II	3 460	fortschreitende Vermehrung	
III a	3 660	216	430
III b	3 280	149	161
IV	3 750	fortschreitende Vermehrung	

10. Versuch.

Wie in Versuch 4 gewonnener, zellfreier Extract 4 Tage lang der Wirkung des destillirten Wassers ausgesetzt (III), Controle mit Kochsalzlösung verdünnt (I), beides im Verhältnisse von 1 : 6; (III) auf phys. Concentration gebracht. Von beiden Flüssigkeiten 1 Theil 1 Stunde auf 70° erwärmt (IV und II). Ausgesät: Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien anf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		4 Std.	9 Std.
I a	6 900	2 900	5 700
I b	6 570	3 860	8 300
II	6 380	13 800	∞
III a	6 650	2 210	9 600
III b	7 800	3 100	4 900
IV	7 100	12 500	∞

11. Versuch.

Exsudatplasma, zum Theil mit phys. Kochsalzlösung (I) zum Theil mit dest. Wasser im Verhältnis von 1 : 10 verdünnt (III), 5 Tage lang im Eisschrank aufbewahrt; hierauf wird (III) auf phys. Concentration gebracht. Von beiden Flüssigkeiten wird ein Theil $^1/_2$ Stunde auf 60° C. erwärmt. (II und IV). Ausgesät: Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
I a	5 800	145	320
I b	5 140	192	870
II	5 900	fortschreitende Vermehrung	
III a	4 970	131	160
III b	5 260	111	280
IV	5 600	fortschreitende Vermehrung	

12. Versuch.

Genau so angeordnet wie Versuch 11. Ausgesät: Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		$2^1/_2$ Std.	9 Std.
I a	2 900	75	230
I b	2 730	12	145
II	2 850	fortschreitende Vermehrung	
III a.	3 600	84	195
III b.	3 150	32	73
IV	3 100	fortschreitende Vermehrung	

13. Versuch.

Gleiche Anordnung wie Versuch 11. Proben eine Woche aufbewahrt. Ausgesät: Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		4 Std.	11 Std.
I a	5 800	870	3 970
I b	6 730	310	2 300
II a	5 900	fortschreitende Vermehrung	
II b	6 680	fortschreitende Vermehrung	
III a.	5 260	1 240	12 800
III b.	5 300	910	11 600
IV a	5 740	fortschreitende Vermehrung	
IV b	5 590	fortschreitende Vermehrung	

Was die Erklärung für dieses abweichende Verhalten der Alexine und der Leukocytenstoffe hinsichtlich ihrer Beeinflussung durch den Salzgehalt des Mediums anlangt, so wird wohl in erster Linie — was wir schon bei einer früheren Gelegenheit angedeutet haben — daran zu denken sein, dass die bactericiden Stoffe in den Zellen in einem andern Micellar- oder Molekularcomplexe abgelagert sind, als in der Gewebs- oder Blutflüssigkeit (das Exsudatplasma vielleicht ausgenommen. s. u.). Acceptirt man die Buchner'sche Erklärung für die Wirkungsweise der Salze, indem man dieselbe als eine indirecte, durch den Bau

des Eiweissmoleküls veranlasste auffasst, so kann nichts Befremdendes darin liegen, dass diese Wirkung ausbleibt, wenn künstlich — sei es durch Erwärmen oder Einfrieren oder durch irgend eine andere Macerationsmethode — Verhältnisse geschaffen werden, die den natürlichen zweifellos nicht ohne weiteres entsprechen, — und dies um so weniger, als doch der Chemismus der Zellen ein ganz anderer ist als der der Blut- und Gewebsflüssigkeiten. Dass sich die künstlichen Extracte wie die Zellen verhalten müssen, haben wir ebenfalls schon einmal ausgesprochen. Nicht ohne weiters von der Hand zu weisen wäre eine andere Erklärung, wonach die bactericiden Leukocytenstoffe als Vorstufen der Serumalexine aufzufassen wären, die sich erst allmählig durch Abbau oder eventuell durch neue Anlagerung — darüber fehlt jegliche Vermuthung — in die »definitiven« Alexine umwandeln. In diesem Falle könnten sie natürlich auch noch abweichende Eigenschaften haben, ohne deshalb etwas völlig Anderes, von den Serumalexinen specifisch Verschiedenes zu sein. Das Verhalten des Exsudatplasmas ist unserer Erklärung nicht hinderlich, dasselbe kann ganz gut eine Mittelstellung zwischen Zelle und Blutserum einnehmen.[1]) Das Exsudatplasma könnte zunächst Blutalexine enthalten. Wenn letztere auch als nicht diffusibel angesehen werden und in Oedemflüssigkeiten anscheinend nicht transsudirt werden, so wäre es doch möglich, dass sie bei einer Entzündung — und als eine solche ist bekanntlich der Process aufzufassen, der sich nach Aleuronatinjection einstellt — wobei viel tiefergehende Läsionen an den Lymph- und Blutgefässen gesetzt werden, in das Exsudat übergehen. Wir sind mit einschlägigen Versuchen beschäftigt. Das Plasma enthält weiter zweifellos die bactericiden Leukocytenstoffe; und so wird es im einzelnen Falle — das Mengenverhältnis der beiden Stoffe wird ein variables sein — das

1) Wir haben in unserer ersten Abhandlung in diesem Archive das Exsudatplasma wegen seines Verhaltens bei der Inactivirung als gleichwerthig mit dem Blutserum aufgefasst. Nach unsern jetzigen Erfahrungen und den Angaben Bail's, auf die wir noch zurückkommen, wird man demselben besser die erwähnte hypothetische Mittelstellung zuweisen.

Verhalten des Serums oder das der Leukocyten zeigen können.[1]) Gewöhnlich ist anscheinend letzteres der Fall.

Noch einmal wollen wir es hier hervorheben, dass der Salzgehalt des Mediums auch für die Inactivirung der Zellstoffe gleichgiltig zu sein schien. Vers. 3 und mehrere nicht weiter erwähnte haben ergeben, dass die bactericide Wirkung der Leukocyten auch nach halbstündigem Erwärmen auf 55 bis 60° in destillirtem Wasser nicht erlischt. Wir thaten demnach gut, seinerzeit für die eigenthümliche Erscheinung, dass die in physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmten Zellen den Inactivirungstemperaturen des Vollexsudats widerstanden, nicht den relativ hohen Kochsalzgehalt allein verantwortlich zu machen, sondern nach einer andern Erklärung zu suchen, die wir in dem Fehlen der plasmatischen Substanzen, in der »Einfachheit« des Mediums gefunden zu haben glauben.

Zum Schlusse dieses Abschnitts führen wir noch zwei hieher gehörige Versuche an, die das Verhalten des Blutserums einer sehr empfindlichen Cultur des Choleravibrio gegenüber veranschaulichen. Man erkennt daraus, dass die bactericide Wirkung im Serum nicht unbedingt an die physiologische Concentration gebunden ist, dass sie aber bedeutend geschwächt wird, wenn man dasselbe mit Wasser verdünnt anstatt mit Kochsalzlösung, und dass die Conservirung der Alexine in der salzarmen Flüssigkeit eine sehr schlechte ist — genau so wie Buchner dies angegeben hat.

14. Versuch.

Kaninchenserum wird theils mit physiol. Kochsalzlösung (I), theils mit destillirtem Wasser (III) im Verhältnisse von 1 : 10 verdünnt. Von beiden Proben wird ein Theil 1 Stunde auf 60° C. erwärmt (II und IV). Ausgesät: Choleravibrio.

---

1) Selbst wenn man es nicht gelten lassen wollte, dass aus dem Serum Alexine in's Plasma durch Exsudation übergehen können, wird man letzteres auf Grund unserer Ausführungen im erwähnten Sinne auffassen können, indem es sowohl frisch producirte bactericide Stoffe, die noch alle Eigenthümlichkeiten der Zellen selbst zeigen, enthalten kann, als auch solche, die bereits die hypothetische Umwandlung in »Alexine« erfahren haben.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	Gleich nach Aussaat	Nach		
		3 Std.	8 Std.	24 Std.
I a	5 200	15	0	0
I b	4 900	12	0	0
II	4 800	fortschreitende Vermehrung		
III a	4 780	270	98	sehr viele
III b	4 530	510	211	sehr viele
IV	5 200	fortschreitende Vermehrung		

15. Versuch.

Kaninchenserum wird mit destillirtem Wasser (1:10) verdünnt und 2 Tage im Eisschrank aufbewahrt; hierauf wird es durch Zusatz einer entsprechend starken Kochsalzlösung auf physiol. Concentration gebracht (III). Zur Controle mit physiol. Kochsalzlösung verdünntes Serum (I). Von beiden wird ein Theil inactivirt (IV und II). Ausgesät: Choleravibrio.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:			
	Gleich nach Aussaat	Nach		
		2 Std.	7 Std.	24 Std.
I a	6 970	12	0	32
I b	6 800	18	0	620
II	6 500	fortschreitende Vermehrung		
III a	6 880	5 870	sehr viele	sehr viele
III b	5 500	6 900	sehr viele	sehr viele
IV	5 920	fortschreitende Vermehrung		

B. Die Beziehungen der bactericiden Leukocytenstoffe zur globuliciden Action des Blutserums.

Durch eine Reihe von Versuchen (Landois, Daremberg, Buchner u. A.) war es festgestellt worden, dass frisch gewonnenes Blutserum die rothen Blutkörperchen fremder Thierspecies aufzulösen vermag, und dass diese globulicide Wirkung durch Erwärmen des Blutserums auf 55 bis 60° zum Verschwinden gebracht werden kann.

Die Wirkung der verschiedenen Serumarten auf die verschiedenartigen Blutkörperchen war in diesen Versuchen

durchaus keine gleichmässige, indem in einzelnen Fällen (Hundeblutkörperchen — Kaninchenserum, Kaninchenblutkörperchen — Meerschweinchenserum) die Auflösung der rothen Blutzellen entweder gar nicht oder nur äusserst langsam erfolgte. — Buchner hielt auf Grund gemeinsamen Verhaltens bei der Inactivirung die globuliciden Stoffe des Blutserums für identisch mit den bactericiden und fasste beide unter der Bezeichnung »Alexine« zusammen.

Wir legten uns nun die Frage vor, wie sich denn die polynucleären Leukocyten gegenüber den rothen Blutkörperchen fremder Thierspecies verhielten.

Wir verwendeten ausschliesslich Kaninchenleukocyten und rothe Blutkörperchen von Meerschweinchen, da sich letztere als besonders geeignet erwiesen hatten. Die Technik der Versuche war im Wesentlichen dieselbe, wie wir sie für die bactericiden Versuche in Anwendung gebracht hatten und wie sie Buchner für die Prüfung der globuliciden Fähigkeit angegeben hat. Nur in einer Beziehung wichen wir ab: wir verdünnten das defibrinirte Meerschweinchenblut nicht mit phys. Kochsalzlösung, sondern fügten zu den auf ihre blutkörperchenlösende Wirkung zu prüfenden Proben 1 bis 2 Tropfen der unverdünnten Blutflüssigkeit hinzu. Da wir zum Theil mit trüben Flüssigkeiten — in jenen Fällen, wo wir die aufgeschwemmten Zellen untersuchten — zu arbeiten hatten, mussten wir von Zeit zu Zeit centrifugiren, um eine eventuelle Lösung des Blutfarbstoffs sicherer beurtheilen zu können.

Wir prüften sowohl die theils durch Gefrieren, theils durch Erwärmen getödteten und in phys. Kochsalzlösung oder in inactivem Blutserum suspendirten Leukocyten als auch deren Extracte und ebenso das Exsudatplasma.

Es ergab sich nun in allen Fällen das bemerkenswerthe Resultat, dass niemals eine nennenswerthe Lösung der Meerschweinchenblutkörperchen erfolgte. In vielen Fällen war noch nach 24 Stunden — die Proben wurden stets bei 37° C. gehalten — die über den Zellen stehende klare Flüssigkeit vollständig farblos. Manchmal war wohl eine geringe Rothfärbung sowohl

in den Zellkochsalzflüssigkeiten als auch im activen Exsudatplasma (niemals in den Extracten oder im inactiven mit Leukocyten versetzten Blutserum) zu constatiren. Doch beziehen wir dies nicht etwa auf eine schwach wirksame globulicide Substanz, sondern auf eine mangelhafte Conservirung der rothen Blutkörperchen — ein Factor, mit dem man ja unter allen Umständen bei diesen Versuchen zu rechnen hat.

Solche leichte Verfärbungen treten nämlich auch in reiner physiologischer Kochsalzlösung, auch in Kochsalzlösungen von andern Concentrationen (0,5 bis 2%), in welchen man Meerschweinchenblutkörperchen suspendirt hat, auf. Kochsalzlösungen sind eben nicht das beste Conservirungsmittel für rothe Blutkörperchen; viel besser erhalten sich dieselben in inactivirten thierischen Flüssigkeiten.

Dass diese geringfügige Auflösung der rothen Blutkörperchen — die übrigens (s. Protokollauszüge) in manchen Fällen vollständig fehlt —, mit der globuliciden Wirkung des Serums gar nichts zu thun hat, erhellt weiter daraus, dass einige Male eine solche auch in Leukocytenkochsalzflüssigkeiten auftrat, die eine halbe Stunde auf 100° C. erhitzt waren.

Die röthliche Verfärbung des Exsudatplasmas — die gleichfalls in vielen Fällen fehlte — wird noch durch eine andere Ursache bedingt sein können. Abgesehen soll hier davon werden, dass das Exsudatplasma möglicherweise aus dem Blutserum globulicide Stoffe erhalten kann — dies scheint nicht der Fall zu sein; doch ein anderer Umstand verdient Beachtung.

Stets tritt nämlich kurze Zeit nachdem man das Meerschweinchenblut zum Kaninchenplasma hinzugefügt hat, im Röhrchen Gerinnung ein. Hiebei geht nun ein grösserer oder kleinerer Bruchtheil der Zellen zugrunde, wozu vielleicht auch das energische Schütteln, das nöthig wird, um die klumpigen Massen allmählig als Flocken abzuscheiden, noch beitragen kann. Hiedurch wird also ohne specifisch globulicide Stoffe eine geringfügige Rothfärbung des Plasmas zustande kommen können.

Zur Controle wurden stets Versuche mit dem Blutserum desselben Thieres angestellt und ebenso in allen Fällen

gleichzeitig die bactericide Kraft der Zellen oder Extracte u. s. w. untersucht.

In allen Versuchen war letztere dem Bact. coli wie dem Staphylococcus gegenüber ungeschwächt erhalten, während eine globulicide Wirkung niemals erkannt werden konnte.

16. Versuch.

a) Zur Prüfung der bactericiden Wirkung:

Isolirte Leukocyten in physiol. Kochsalzlösung suspendirt, wiederholt eingefroren und aufgethaut (I). Filtrat davon (II). Bact. coli.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
Ia	9 500	16	0
Ib	8 900	28	0
IIa	8 760	fortschreitende Vermehrung	
IIb	9 100	fortschreitende Vermehrung	

b) Zur Prüfung der globuliciden Wirkung:

Die gleichen Flüssigkeiten wie in a), ausserdem noch Blutserum vom gleichen Kaninchen (III), zum Theile inactivirt (IV), werden zu je 2 ccm in sterile Röhrchen gefüllt und dann mit je 2 Tropfen defibrinirten Meerschweinchenblutes innig vermengt. Sämmtliche Proben werden in ein auf 37° C. erwärmtes Wasserbad eingebracht.

	Verhalten der einzelnen Proben:
Ia, Ib	Selbst nach 24 Stunden ist die über den Zellen stehende Flüssigkeit völlig farblos.
IIa, IIb	Gleiches Verhalten.
IIIa, IIIb	Vollständige Lösung in einigen Minuten.
IVa, IVb	Die rothen Blutkörperchen sind noch nach 24 Stunden vollkommen gut erhalten.

17. Versuch.

a) Zur Prüfung der bactericiden Wirkung:

Isolirte Kaninchenleukocyten werden zum Theil in Kochsalzlösung (I), zum Theil in inactivem Plasma aufgeschwemmt (III). Ein Theil der Zellkochsalzflüssigkeiten $^1/_2$ Stunde auf 100° erwärmt (II); (I) und (III) werden 3 mal eingefroren und aufgethaut. Actives (IV) und inactives (V) Exsudatplasma. Ausgesät: Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	9 Std.
I	3 870	15	0
II	3 650	6 300	sehr viele
III	3 700	290	220
IV	3 250	12	0
V	3 280	fortschreitende Vermehrung	

b) Zur Prüfung der globuliciden Wirkung:

Die gleichen Flüssigkeiten wie in a), ausserdem actives (VI) und inactives (VII) Blutserum. Gleiche Anordnung wie in Versuch 16 b.

	Verhalten der einzelnen Proben:
Ia	In Ia nach ca. 10 Stunden leicht röthliche Färbung.
Ib	Ib andauernd farblos.
IIa, IIb	Nach 12 Stunden leicht röthlich gefärbt.
IIIa, IIIb	Bleibt vollständig farblos.
IVa, IVb	Bleibt vollständig farblos.
V	Bleibt vollständig farblos.
VIa, VIb	In kürzester Zeit Lösung der rothen Blutkörperchen.
VII	Die rothen Blutkörperchen bleiben gut erhalten.

18. Versuch.

a) Zur Prüfung der bactericiden Wirkung:

Vollexsudat (I), Exsudatplasma (II), zum Theil inactivirt (III). Isolirte Leukocyten in physiol. Kochsalzlösung $^1/_2$ Stunde auf 58° erwärmt (IV); Filtrat hievon (V). Ausgesät: Bact. coli.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		$3^1/_2$ Std.	8 Std.
I	4 600	31	2
II	4 260	98	5
III	3 900	fortschreitende Vermehrung	
IV	4 900	18	0
V	4 750	fortschreitende Vermehrung	

b) Zur Prüfung der globuliciden Wirkung:

Die gleichen Flüssigkeiten wie in a), ausserdem noch actives (VI) und inactives (VII) Serum. Gleiche Versuchsanordnung wie bisher.

	Verhalten der einzelnen Proben:
Ia, Ib	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
IIa, IIb	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
III	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
IVa, IVb	Beide Proben nach 24 Stunden leicht röthlich gefärbt.
V	Nach 12 Stunden schwach röthlicher Stich.
VI	In kürzester Zeit vollständige Lösung.
VII	Noch nach 24 Stunden keine Lösung.

19. Versuch.

a) Zur Prüfung der bactericiden Wirkung:

Isolirte Leukocyten, in inactivem Blutserum aufgeschwemmt, theils unverändert (I), theils wiederholt eingefroren (II). Inactives Serum (III). Leukocyten in physiol. Kochsalzlösung suspendirt und 1/2 Stunde auf 55° C. erwärmt (IV). Filtrat davon 1/2 Stunde auf 80° C. erwärmt (V). Exsudatplasma activ (VI) und inactivirt (VII). Ausgesät: Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten: Gleich nach Aussaat	Nach 2 Std.	Nach 8 Std.
I	2 820	1 260	4 900
II	2 700	420	360
III	2 220	fortschreitende	Vermehrung
IV	2 600	5	0
V	2 890	fortschreitende	Vermehrung
VI	3 200	2	0
VII	2 740	fortschreitende	Vermehrung

b) Zur Prüfung der globuliciden Wirkung:

Die gleichen Flüssigkeiten wie in a), ausserdem actives (VIII) und inactives (IX) Blutserum. Gleiche Versuchsanordnung wie bisher.

	Verhalten der einzelnen Proben:
Ia, Ib	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
IIa, IIb	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.

	Verhalten der einzelnen Proben:
IIIa, IIIb	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
IVa, IVb	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
Va, Vb	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
VIa, VIb	Leichte Rothfärbung nach 24 Stunden.
VIIa, VIIb	Die rothen Blutkörperchen bleiben wohl erhalten.
VIIIa, VIIIb	Die rothen Blutkörperchen werden in kürzester Zeit aufgelöst.
IXa, IXb	Keine Lösung.

20. Versuch.

a) Zur Prüfung der bactericiden Wirkung:

Zellextract, durch Einfrieren von Leukocyten in inactivem Exsudate gewonnen (I). Zum Theil 1 1/2 Stunden auf 68° C. erwärmt (II) Ausgesät: Staphylococcus. Kein nennenswerthes Haufenwachsthum.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	9 Std.
Ia	2 760	560	340
Ib	2 230	290	175
IIa	2 900	fortschreitende Vermehrung	
IIb	?	fortschreitende Vermehrung	

b) Zur Prüfung der globuliciden Wirkung:

Dieselben Flüssigkeiten wie in a), ausserdem actives (III) und inactivirtes (IV) Blutserum.

	Verhalten der einzelnen Proben:
Ia, Ib	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
IIa, IIb	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
IIIa, IIIb	Sofortige Lösung der rothen Blutkörperchen.
IV	Die rothen Blutkörperchen bleiben intact.

21. Versuch.

In Kochsalzlösung von verschiedener Concentration wird defibrinirtes Meerschweinchenblut eingebracht, und bei 37° C. gehalten.

Kochsalz-lösung		Verhalten der einzelnen Proben in: während 24 Stunden
5 ‰	a	Geringfügige Lösung der rothen Blutkörperchen.
	b	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
5,5 ‰	a, b	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
6 ‰	a, b	Sehr schwache Rothfärbung in a); Fehlen derselben in b).
6,5 ‰	a, b	Geringfügige Lösung der rothen Blutkörperchen.
7 ‰	a	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.
	b	Geringfügige Lösung der rothen Blutkörperchen.
7,5 ‰	a, b	Geringfügige Lösung der rothen Blutkörperchen.
8 ‰	a, b	Keine Lösung der rothen Blutkörperchen.

Aus den eben angeführten Versuchen ergibt sich eins mit aller Sicherheit: dass die bacterienfeindlichen Stoffe der Leukocyten in der Form, wie sie von den Zellen abgegeben werden, unmöglich identisch sein können mit den globuliciden Stoffen des Blutserums. Das folgt mit absoluter Gewissheit aus jenen Parallelversuchen, in denen die gleichen Leukocytenextracte, die kräftig bactericid wirkten, nicht im geringsten die rothen Blutkörperchen zu lösen im Stande waren. Wir halten es für ausgeschlossen, dass hiebei antagonistische Einflüsse sich geltend machen konnten, welche die rothen Blutkörperchen vor dem Zugrundegehen schützten: solche Compensationen sind wohl bei Organismen, wie sie die Bacterien z. B. vorstellen, möglich, wären aber in unserm Falle ganz unverständlich.

Als zweite Schlussfolgerung ergibt sich, wenn auch nur mit grosser Wahrscheinlichkeit, dass die globuliciden Stoffe überhaupt nicht in den Leukocyten gebildet resp. von ihnen an das Blut abgegeben werden. Doch können wir dies nicht mit Bestimmtheit behaupten. Wenn wir auch die in einigen Versuchen

aufgetretene geringfügige Lösung von rothen Blutkörperchen, wie schon ausführlich auseinandergesetzt, nicht als die Folge einer eigentlich globuliciden Wirkung auffassen, so ist doch weiter die Möglichkeit vorhanden, dass die Leukocyten solche Stoffe enthalten und im Thier auch an das Blut abgeben.

Es wäre ja möglich, dass es einfach nicht gelingt, in vitro die Stoffe aus den Zellen frei zu machen, dass ein besonderer Lebensprocess der Zelle hiezu nöthig ist, wie er im Reagenzglase eben nicht zustande kommt; freilich, viel Wahrscheinlichkeit hat diese Vermuthung nicht für sich.

Aus der Thatsache, dass wir die bacterienfeindlichen Stoffe der Leukocyten und die globuliciden Stoffe des Blutserums für von einander verschiedene Substanzen halten müssen, ergibt sich weiter — soferne man an der Identität der bactericiden Stoffe in den Zellen und im Blute festhält — dass die bactericiden und die globuliciden Stoffe des Blutserums (die »Alexine« Buchners) ebenfalls von einander verschieden sein müssen. Nur in dem einen Falle brauchte man sich hiezu nicht zu entschliessen, wenn man der Meinung wäre, dass die bactericiden Leukocytenstoffe erst bei der Umwandlung in die »definitiven« Alexine die globulicide Fähigkeit erwerben. Diese Annahme erscheint uns aber gezwungener als die von uns ausgesprochene Vermuthung, dass die globuliciden Stoffe eigene, selbständige chemische Individuen sind.

Wir schlagen demnach vor, den Sammelausdruck »Alexine« fallen zu lassen und diese Bezeichnung nur — ihrer etymologischen Bedeutung entsprechend — für die bactericiden Stoffe des Serums zu gebrauchen.

II. Kritischer Theil.

Die Arbeiten Löwit's.

Wie wir bereits in unserer ersten Abhandlung (Nachtrag zur Correctur) kurz andeuten konnten, hat Löwit in dem 2. Abschnitte seiner Arbeit »Ueber die Beziehung der Leukocyten zur bactericiden Wirkung und zur alkalischen Reaction des Blutes

und der Lymphe«[1]) Mittheilung darüber gemacht, dass es ihm gelungen sei, aus Leukocyten (ein- und mehrkernigen) des Meerschweinchens und Kaninchens durch Zerreiben derselben mit fein gestossenem Glaspulver, von welchem man mit Vortheil grössere Mengen verwende, bactericide Stoffe zu extrahiren, die aber von den bisher gefundenen sich dadurch unterschieden, dass sie hitzebeständig waren. Dieselben wurden durch ein 5 Minuten langes Kochen nicht im geringsten geschädigt. Löwit hat seine Versuche mit einer Typhusbacillen- und Staphylococcencultur angestellt und hiebei ausserordentlich kräftige Wirkungen beobachten können, so dass die ausgesäten Bacterien nicht selten bis auf wenige Keime abgetödtet wurden. Gegen die Möglichkeit, dass diese Stoffe aus dem — übrigens nur sehr schwach wirksamen Lymphserum stammen könnten, schützte sich Löwit, indem er die Zellen 8 bis 10 mal auf der Centrifuge mit Kochsalzlösung wusch. Die Extracte stellen nach Löwit milchige, stets trübe filtrirende Flüssigkeiten von schwach alkalischer Reaction vor, die wenig durch Hitze fällbares Eiweiss enthalten, deutliche Biuretreaction geben und mit Essigsäure flockig oder klumpig gefällt werden.

Wir haben nun sofort nach Erscheinen der Löwit'schen Arbeit dieselbe nachgeprüft und theilten noch in unserer bereits in Druck befindlichen Abhandlung (Archiv f. Hyg. Bd. 31.) nachtragsweise mit, dass die von Löwit gewonnenen Substanzen nicht aus den Zellen sondern aus dem Glaspulver stammen.

Zu dieser, wie wir gerne zugeben, schwerwiegenden Behauptung waren wir durch unsere Versuche vollkommen berechtigt. Wir drückten zum Schlusse die Vermuthung aus, dass der hohe Alkalescenzgrad, wie ihn solche Glasextracte zeigen, mit an der hitzebeständigen bactericiden Wirkung betheiligt sei. Die bei dieser Gelegenheit angestellten Experimente wollen wir, um später Wiederholungen zu vermeiden, nicht in extenso hier anführen; unsere späteren Versuche sind zum Theile nach dem

1) Auf den ersten Theil der Abhandlung, der nach Löwit selbst zu keinen positiven Resultaten führte, soll hier nicht eingegangen werden.

gleichen Schema unternommen worden und beleuchten diese Frage in ausreichend erschöpfendem Maasse. Löwit hat nun vor Kurzem in einer zweiten Mittheilung alle seine Resultate aufrecht erhalten. Er wendet sich zunächst gegen unsere Behauptung, dass die Alkalescenz in den Zellextracten, welche durch das Auslaugen des zerriebenen Glaspulvers bedingt ist, das Absterben der Bacterien herbeiführen könne, nachdem in »guten Nährböden« ein solcher Alkalescenzzuwachs ganz gleichgiltig sei. Hiebei führt er Versuche an, die hiefür sprechen: Er verrieb Bouillon und Uschinsky'sche Nährlösung mit Glaspulver, ohne dass dadurch die normale Entwicklung nachträglich darin ausgesäter Typhusbacillen irgendwie gehemmt worden wäre. Die Alkalescenz war durch das Verreiben mit Glaspulver, wie Löwit durch Titriren mit Normalsalzsäure ermittelte, bis auf 0,1% NaOH (= $^1/_{40}$ Norm. Na OH) gestiegen, ohne angeblich irgend welche schädlichen Wirkungen auf die Typhusbacillen geäussert zu haben.

Nachdem also das Zerreiben von Glaspulver in Bouillon und Uschinsky'scher Lösung keine effectiv dem Bacterienwachsthum abträglichen Stoffe freigemacht hatte, war nach Löwit vorauszusetzen, dass die kräftige bactericide Wirkung der Zellextracte nicht dem aus dem Glase gelösten Alkali zugeschrieben werden dürfe, und dies wurde weiter dadurch bestätigt, dass er die Extracte, ohne dadurch die bactericide Wirksamkeit zu schädigen, mit Normalsalzsäure neutralisiren konnte.

Löwit meint ferner, dass unsere Resultate sich dadurch erklärten, dass wir ein Glaspulver benutzten, das einen stärkeren Alkalescenzzuwachs bedingte als die von ihm verwendete Sorte.

Wir wollen hier gleich hervorheben, dass letzteres durchaus nicht der Fall war und schon nach unserer ersten Mittheilung füglich ausgeschlossen werden konnte. Wir haben ja ausdrücklich erwähnt, dass der Alkalescenzgrad in den Zellextracten bis zu $^1/_{40}$ Norm. Alkali betrug. Ebenso hoch erhob er sich auch in den Löwit'schen Versuchen.

Weiter müssen wir, bevor wir auf unsere eigenen Untersuchungen zu sprechen kommen, bemerken, dass wir die Löwit-

schen Versuche mit Bouillon und Uschinsky'scher Nährflüssigkeit doch nicht für ganz exacte Controlversuche halten können. Wir haben uns seinerzeit bemüht, dadurch dass wir zur Controle physiologische Kochsalzlösung ohne Zellen mit Glaspulver verrieben, und zu diesen Extracten Serum hinzufügten, thatsächlich die gleichen oder wenigstens möglichst ähnliche Bedingungen zu schaffen, wie sie in der für die Glaszellextracte gewählten Versuchsanordnung geboten waren.

Unsere eigenen Versuche, wie wir an anderer Stelle schon kurz mitgetheilt haben, führten nun zu völlig anderen Resultaten als den Angaben Löwit's entspricht.

Schon das Eine konnten wir nicht bestätigen, dass in guten Nährlösungen die durch das Verreiben mit Glaspulver bedingte Alkalescenz für das Bacterienwachsthum gleichgiltig sei. Wir fanden im Gegentheil, dass in allen Fällen, wo wir entweder Bouillon mit Glaspulver verrieben oder wo wir zu Serum so behandelte Kochsalzlösung hinzufügten[1]), eine beträchtliche Hemmung des Bacterienwachsthums die Folge war. Dies trat auch zu Tage, wenn die Alkalescenz weniger als 0,1 % Na OH betrug. Dass thatsächlich die schädlichen Stoffe des Glaspulvers in diesem Falle durch »Alkaliwirkung« die Bacterien beeinflussten, konnten wir dadurch bekräftigen, dass stets nach vorsichtigem Neutralisiren der Proben mit $^1/_{10}$ Normal-Salz- oder Schwefelsäure — Phenolphthalein als Indicator — jeder hemmende Einfluss beseitigt erschien.

Wir prüften in der angegebenen Richtung 3 Staphylococcen- und 4 Typhusbacillenstämme.

22. Versuch.

Schwach alkalische Bouillon — auf Rosolsäure, aber nicht auf Phenolphthalein reagirend — (I) wird mit Glaspulver Nr. 1 (aus leicht schmelzbarem Glase gewonnen) durch 20 Min. intensiv verrieben; hierauf wird centrifugirt, wobei sich das ganze Glaspulver rasch abscheidet, und die Flüssigkeit sich fast vollständig klärt. Dann wird filtrirt und mit $^1/_{10}$ N-Schwefelsäure die Alkalescenz bestimmt; dieselbe betrug 0,092 % Na OH. Ein Theil

1) Für das Blutserum konnten wir dies schon in unserer ersten Abhandlung mittheilen.

dieser stark alkalischen Bouillon (II) wird neutralisirt (III). Ausgesät: Typhusbacillus I.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
I	5 960	8 900	∞
II a	5 800	290	125
II b	5 250	1 120	370
III a	5 640	5 290	12 800
III b	6 100	6 280	11 700

23. Versuch.

Dieselben Versuchsflüssigkeiten. Ausgesät: Staphylococcus I.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		$2^1/_2$ Std.	8 Std.
I a	7 950	9 600	∞
I b	7 430	8 500	∞
II a	7 500	5 200	3 700
II b	6 840	4 900	5 800
III a	7 830	7 500	sehr viele
III b	7 660	7 120	sehr viele

24. Versuch.

Schwach alkalische Bouillon wird mit Glaspulver Nr. 2 (gleichfalls aus weichem Glase bereitet) intensiv verrieben. Schliessliche Alkalescenz der klaren Flüssigkeit = 0,082 % NaOH. Anordnung des Versuchs wie in den vorhergehenden. Ausgesät: Staphylococcus II.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	7 Std.
I a	1 870	2 840	∞
I b	1 650	3 100	∞
II a	2 090	1 630	3 400
II b	2 010	1 210	930
III a	1 730	2 500	18 000
III b	1 700	2 100	23 500

25. Versuch.

Die gleichen Flüssigkeiten wie in Versuch 24. Die gleiche Anordnung. Ausgesät: Typhusbacillus II und Typhusbacillus III.

a) Typhusbacillus II.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	$6^1/_2$ Std.
Ia	1 730	3 600	∞
Ib	1 540	3 200	∞
IIa	1 820	54	11
IIb	1 740	16	0
IIIa	1 550	2 800	sehr viele
IIIb	1 320	2 160	sehr viele

b) Typhusbacillus III.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		4 Std.	$9^1/_2$ Std.
Ia	9 200	sehr viele	∞
Ib	8 820	sehr viele	∞
IIa	8 760	3 900	4 100
IIb	9 340	7 600	6 800
IIIa	8 500	15 800	sehr viele
IIIb	8 520	22 600	sehr viele

Die mit Blutserum angestellten Versuche sollen hier übergangen werden, da später zur Controle ausgeführte ganz gleich verliefen (vergl. u.)

Wir wollen unsern abweichenden Resultaten nicht zu viel Werth beilegen; es ist für die Frage nach der Existenz hitzebeständiger bactericider Stoffe in den nucleïnreichen Zellen ziemlich gleichgiltig, ob die schädlichen Stoffe des Glaspulvers, die ja von Löwit principiell durchaus nicht geleugnet werden, sondern nur als irrelevant hingestellt werden, in Bouillon oder Serum zur Geltung kommen können. Vielleicht sind da wirklich

bezüglich der einzelnen Bacterien, abhängig von deren verschiedenen Empfindlichkeit, so grosse Unterschiede vorhanden. Wichtig ist aber, dass stets nach dem Neutralisiren — gerade so wie Löwit es für die physiologische Kochsalzlösung angegeben hat — die Bacterien ungehindert oder fast ungehindert in Bouillon und Blutserum sich vermehrten.

Dies war für uns der Ausgangspunkt für die weiteren Untersuchungen.

Wir konnten nämlich — und dies widerspricht weiter den Angaben Löwit's — feststellen, dass auch die bactericide Wirksamkeit der Zellextracte, die öfter ebenso stark wie in den Löwit'schen Versuchen war, stets durch vorsichtiges Neutralisiren aufgehoben wurde.

Die durch Zerreiben hergestellten Zellextracte enthalten demnach keine wie immer gearteten, also auch keine hitzebeständigen bactericiden Zellstoffe, sondern verdanken ihre bacterienschädigenden Wirkungen nur den alkalischen, aus dem Glaspulver stammenden Substanzen. Das Zerreiben der Zellen bei gewöhnlicher Temperatur ist demnach von allen Extractionsmethoden die minderwerthigste. Wir hatten dies schon vor Jahren erfahren, indem es uns niemals gelang, durch Zerreiben der polynucleären Leukocyten bactericide Stoffe in Lösung zu bringen. Wir vermuthen, dass beim mechanischen Zerkleinern der Zellen bei gewöhnlicher Temperatur und in physiologischer Kochsalzlösung doch nur eine schlechte Maceration derselben erfolgt, und dass die überwiegende Menge der bactericiden Substanzen in den Zellresten bleibt und mit diesen und dem Quarzsand resp. Glaspulver durch das stets vorgenommene Centrifugiren entfernt wird. An eine schädliche Wirkung des Zerreibens, dass etwa die bactericiden Stoffe dabei vernichtet würden, denken wir zunächst nicht; dass mässiges Reiben ohne Quarzsand nicht schadet, können wir mit Bestimmtheit angeben.

Die Zellglasextracte verlieren nach dem Neutralisiren stets ihre bacterienschädigenden Eigenschaften, wenn man eines dabei nicht unterlässt. Man muss dafür sorgen, dass das Glaspulver, das sich ungemein fein zerreiben lässt, wirklich zum

grössten Theile aus den Proben durch Centrifugiren — Filtriren erweist sich wegen der Kleinheit der Glaspartikelchen als nutzlos — entfernt wird, sonst kann es sein, dass auch nach dem Neutralisiren die schädigende Wirkung des fein vertheilten Glaspulvers noch zum Theile sich geltend macht. Dass suspendirtes Glaspulver während des Versuches bei 37° weiter ausgelaugt wird, kann man ohne weiteres ersichtlich machen, wenn man solche aufgeschwemmtes Glaspulver enthaltende Extracte unter Zusatz von Phenolphthaleïnlösung neutralisirt. In kürzester Zeit ist wieder Rothfärbung der Flüssigkeit eingetreten, so dass man von neuem einige Tropfen verdünnter Säure bis zur Entfärbung hinzufügen muss; letzteres kann wiederholt nöthig werden.

Solches suspendirte Glaspulver wird nun nicht etwa nur in den Zellextracten nachträglich ausgezogen, sondern auch in reiner physiologischer Kochsalzlösung; wir haben hierüber besondere Versuche angestellt. Aber unter gleichen sonstigen Versuchsbedingungen ist die Wahrscheinlichkeit, dass in Kochsalzlösung (auch in Bouillon) Glaspulver zurückbleibt, eine viel geringere als sie für die Zellextracte besteht. Dies kommt davon, dass die Zellextracte ein höheres specifisches Gewicht als die physiologische Kochsalzlösung zeigen und daher viel leichter feine körperliche Elemente in Schwebe erhalten können.

Thatsächlich kann man sich im Versuche davon überzeugen, dass aus Bouillon und phys. Kochsalzlösung ziemlich rasch das Glaspulver sich durch die Centrifuge abscheiden lässt; ganz anders bei den Zellflüssigkeiten. Da setzt sich noch nach 6 bis 8 Stunden ununterbrochenen Centrifugirens ein Bodensatz ab, der, wie man leicht erkennt (Glühen auf dem Platinblech im Gebläse!), zum weitaus grössten Theile aus Glaspulver besteht. Auf diesem Gehalte an suspendirtem Glaspulver beruht auch das milchige Aussehen dieser Extracte. Hat man lang genug centrifugirt (ebenso nach 24- bis 48 stündigem Sedimentiren), so bleibt nur eine verschieden starke Opalescenz der Flüssigkeiten zurück.

Wir haben uns auch noch durch quantitative Bestimmungen des glühfesten Rückstands der Extracte, die zu verschiedenen Zeiten während des Centrifugirens ausgeführt wurden, überzeugt,

dass lange Zeit Glaspulver abgeschieden wird, indem stets kleinere Werthe für die Kieselsäure und deren Salze gefunden wurden.

Löwit hat besonders hervorgehoben, dass nur dann seine Extracte stark wirksam waren, wenn sie viel durch Essigsäure Fällbares — demnach viel Nucleohiston enthielten. Auch dies traf in unsern Versuchen nicht zu, es war die Menge dieses Niederschlags ganz gleichgiltig resp. es war stets, auch wenn durch Zusatz der Essigsäure sich ein »gallertiger« Niederschlag gebildet hatte, die bactericide Wirkung nach dem Neutralisiren, sofern wir das Glaspulver vollständig entfernt hatten, gleich Null. Die Menge des Essigsäureniederschlags kann nur indirect von Einfluss auf den schliesslichen Effect sein, indem im geraden Verhältnisse hiezu das specifische Gewicht der Flüssigkeit zu- und abnehmen muss.

Wir werden später noch einmal darauf zurückkommen, wollen aber doch hier bemerken, dass schon der Umstand, dass Löwit diesem Essigsäureniederschlage so viel Bedeutung beimisst, uns vermuthen liess, dass seine Extracte nicht den Zellen ihre Wirkungen auf die Bacterien verdanken, da das Nucleohiston — wie wir dies noch eingehend begründen werden — mit den bactericiden Fähigkeiten der Leukocyten gar nichts zu thun hat.

Wir stellten unsere Versuche wieder mit 3 Typhusbacillen- und 2 Staphylococcenstämmen an.

26. Versuch.

Isolirte Leukocyten vom Kaninchen werden in wenig physiol. Kochsalzlösung (2—3 ccm) suspendirt und in einer sterilisirten Reibschale intensiv mit Glaspulver (I) verrieben (25 Minuten). Mikroskopisch sind bereits nach 7 Minuten langem Reiben keine unversehrten Zellen mehr zu erkennen. Dann wird der Brei in 10 ccm physiol. Kochsalzlösung aufgerührt und in sterilen Röhrchen auf die Centrifuge gebracht. Nach $3^1/_2$ stündigem Centrifugiren ist anscheinend der grösste Theil des Glaspulvers sedimentirt. Es wird vom Bodensatze vorsichtig abgegossen und die noch schwachtrübe Flüssigkeit zum Theil mit $^1/_{10}$ N.-Schwefelsäure neutralisirt (hiebei gefundene Alkalescenz = 0,05 % Na OH); mit Essigsäure starke, flockige Fällung.

Weiter wird zur Controle Glaspulver (I) mit 2—4 ccm physiol. Kochsalzlösung verrieben und weiter genau wie für die Zellextracte verfahren, wobei sich etwa schon nach 1 Stunde das suspendirte Glaspulver vollkommen abgeschieden hatte. (Alkalescenz der Flüssigkeit = 0,03 % Na OH). Ein

Theil wieder neutralisirt. Für den Versuch wird zu allen Proben die gleiche Menge inactivirten Kaninchenserums hinzugesetzt. Ausgesät: Typhusbacillus I.

Glaszellextract und Serum . . (I),
Glaszellextract neutral. u. Serum (II),
Glasextract und Serum . . . (III),
Glasextract neutr. und Serum . (IV),
phys. Kochsalzlösung und Serum (V).

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	9 Std.
Ia	4 900	80	55
Ib	5 400	102	112
IIa	5 600	7 400	18 600
IIb	5 850	8 900	16 500
IIIa	5 740	1 280	970
IIIb	5 210	1 490	1 220
IVa	4 810	3 760	6 900
IVb	5 160	3 280	8 800
Va	5 050	10 300	sehr viele
Vb	5 080	8 700	sehr viele

27. Versuch.

In ganz gleicher Weise wie Versuch 26 mit Glaspulver (II) angestellt. Alkalescenz des Zellextracts = 0,1 %; Alkalescenz des Glasextracts = 0,09 %. Ausgesät: Typhusbacillus II.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		4 Std.	7 Std.
Ia	5 870	112	92
Ib	5 510	144	88
IIa	5 970	10 200	18 400
IIb	6 050	9 600	17 200
IIIa	5 840	211	150
IIIb	5 710	195	94
IVa	6 230	8 300	10 600
IVb	6 390	7 200	8 500
Va	6 400	fortschreitende Vermehrung	
Vb	5 800	fortschreitende Vermehrung	

28. Versuch.

In gleicher Weise wie Versuch 26 angestellt. Der Zellextract gibt mit Essigsäure gallertige Fällung. Alkalescenz desselben = 0,08 %, Alkalescenz des Glasextracts = 0,05 %. Ausgesät: Staphylococcus I).

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
I a	4 700	2 580	2 100
I b	4 950	3 200	2 970
II a	4 560	8 500	13 200
II b	4 630	6 200	10 750
III a	4 630	3 800	5 200
III b	4 890	4 270	4 100
IV a	4 700	5 800	10 700
IV b	5 200	5 900	9 260

29. Versuch.

Isolirte Leukocyten vom Kaninchen werden in 3—4 ccm physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit Glaspulver (III) $^1/_2$ Stunde verrieben. Mikroskopisch nur mehr Detritus erkennbar. In 10 ccm physiol. Kochsalzlösung vertheilt und centrifugirt. Nach 1 Stunde ein Theil abpipettirt; die Hälfte hievon mit $^1/_{10}$ N.-Salzsäure neutralisirt. (Alkalescenz = 0,09%). Die Flüssigkeit ist stark milchig getrübt und enthält noch viel suspendirtes Glaspulver (gefärbtes Präparat und Glühprobe). Der Rest wird weitere 5 Stunden centrifugirt, wobei die Flüssigkeit langsam durchsichtiger wird. Dann wird vorsichtig abgegossen, ein Theil wieder mit $^1/_{10}$ N.-Salzsäure neutralisirt (Akalescenz = 0,085%). Nur sehr kleine Mengen Glaspulvers sind noch in Suspension. Ausgesät: Typhusbacillus III.

Zuerst abgehobener Zellextract und Serum . . . (I),
» » » neutral. und Serum . (II),
Später gewonnener Zellextract und Serum . . . (III),
» » » neutral. und Serum . (IV),
Physiologische Kochsalzlösung und Serum . . . (V),

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	$8^1/_2$ Std.
I a	7 900	111	92
I b	7 580	84	63
II a	7 820	4 230	2 600
II b	7 770	2 900	2 200
III a	8 300	290	155
III b	8 200	185	121
IV a	7 950	8 200	21 800
IV b	7 600	9 100	22 900
V	8 150	fortschreitende Vermehrung	

In letzterem Versuche war demnach zu erkennen, dass infolge des noch in grosser Menge suspendirten Glaspulvers die Neutralisation der Flüssigkeit deren bactericide Wirkung nicht ganz zum Erlöschen brachte; immerhin wurde sie aber — im Gegensatze zu den Löwit'schen Ergebnissen — wesentlich herabgemindert.

30. Versuch.

Anordnung wie in Versuch 29. Alkalescenz des zuerst abgehobenen Extracts = 0,1%, Alkalescenz der länger centrifug. Flüssigkeit = 0,09%. Von beiden ein Theil am nächsten Tage mit $^1/_{10}$ N.-Schwefelsäure neutralisirt. Ausgesät: Staphylococcus II.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		4 Std.	10 Std.
Ia	2 700	1 320	410
Ib	2 830	940	280
IIa	2 960	2 280	3 950
IIb	3 200	2 800	5 600
IIIa	3 100	1 580	820
IIIb	2 650	1 210	540
IVa	2 800	5 900	sehr viele
IVb	2 910	6 160	sehr viele

31. Versuch.

Glaspulver (II) wird mit physiol. Kochsalzlösung intensiv verrieben; hierauf wird durch kurzes Centrifugiren der grösste Theil des Glaspulvers abgeschieden. Die obenstehende trübe Flüssigkeit wird abgegossen und weiter so lange centrifugirt, bis vollständige Klärung eingetreten war. Die Hälfte davon wird klar abpipettirt, der Rest wird mit dem feinen Bodensatz neuerdings aufgeschüttelt. Ausgesät: Typhusbacillus I.

Klarer Glasextract und Serum . . . (I),
Trüber » » » . . . . . (III),
Klarer Glasextract neutral. und Serum (II),
Trüber » » » » . (IV),
Physiol. Kochsalzlösung und Serum . (V).

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	$7^1/_2$ Std.
Ia	5 590	820	320
Ib	5 400	760	440
IIa	6 100	8 300	sehr viele

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	$7^1/_2$ Std.
II b	5 820	9 600	sehr viele
III a	6 280	390	49
III b	6 340	220	34
IV a	5 920	3 200	2 730
IV b	5 870	2 940	2 480
V	5 420	10 200	∞

Drei weitere mit Pulver aus schwer schmelzbarem Kaliglase angestellte Versuche verliefen in ganz gleicher Weise wie Versuch 26 bis 30, nur dass die bactericide Wirkung der nicht neutralisirten Proben, entsprechend der meist geringeren Alkalescenz derselben, eine durchschnittlich schwächere war.

Bemerkenswerth ist, dass in diesen Versuchen stets nach dem Neutralisiren die bactericide Wirkung der Zellextracte vollständig geschwunden war u. zw. auch dann, wenn das Glaspulver nicht vollständig entfernt wurde. Das schwerer lösliche Kaliglas wird eben nur, wie Versuche ergaben, sehr langsam ausgelaugt, so dass sich im Verlaufe eines Versuchs eine nur unbedeutende, ziemlich gleichgiltige Alkalescenzsteigerung ergibt.

Löwit hat in seiner 2. Mittheilung nur Versuche, die mit einkernigen Lymphzellen angestellt waren, mitgetheilt. Solche verschaffte er sich aus dem als Pankreas aselli bekannten Lymphdrüsenpaket grosser kräftiger Kaninchen.

Wir haben auch diese Versuche nachgeprüft und sind zu ganz dem gleichen Resultat gekommen wie früher bei den Versuchen mit polynucleären Zellen; auch aus den Lymphzellen lässt sich durch Zerreiben keine hitzbeständige Substanz gewinnen. Das Pankreas aselli präparirt man am besten in der Weise, dass man zunächst die Brusthöhle ausräumt und die ganze vordere und zum Theil auch die seitlichen Wände des knöchernen Brustkorbs entfernt. Hierauf wird die Bauchhöhle eröffnet und der Magen möglichst nach oben gespannt, wodurch die Gegend des plexus coeliacus leicht zugänglich wird.

Präparirt man nun noch das colon transversum vorsichtig ab, so zeigt sich gewöhnlich ohne weiteres Eingreifen das gesuchte Drüsenpaket, öfters von Fett- und Zellgewebe theilweise eingehüllt, aus dem man es leicht stumpf herausschält — wobei man stärkere Blutungen aus dem Venennetze bei einiger Achtsamkeit unschwer vermeidet.

32. Versuch.

Nach Löwit isolirte Lymphzellen aus dem Pankreas aselli; mit Glaspulver (II) zerrieben; weiter nach Löwit verfahren. Zellextract (Alkalescenz = 0,11 %) mit Essigsäure flockige Fällung, theilweise mit $^1/_{10}$ N.-Schwefelsäure neutralisirt. Ausgesät: Typhusbacillus II.

Zellextract und Serum . . . (I),
Zellextract neutral. und Serum (II).

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach 3 Std.	Nach 7 Std.
Ia	8 850	270	109
Ib	8 260	115	84
IIa	9 200	8 600	sehr viele
IIb	9 140	10 500	sehr viele

33. Versuch.

Gleiche Anordnung wie in Versuch 32. Zellextract mit Essigsäure gallertige Fällung; Alkalescenz = 0,095 %; ein Theil mit $^1/_{10}$ N. Salzsäure neutralisirt. Ausgesät: Staphylococcus I.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach 3 Std.	Nach $7^1/_2$ Std.
Ia	4 600	580	420
Ib	4 220	640	510
IIa	4 570	6 200	sehr viele
IIb	4 800	5 400	sehr viele

Das wirksame Alkali in den Glaspulverversuchen ist das kieselsaure Salz. Stellt man sich aus dem käuflichen Wasserglas durch Fällen und wiederholtes Waschen mit Alkohol das reine kieselsaure Natron dar, so wirkt letzteres in 2 bis 5 ‰ wässriger Lösung (mit gleichen Theilen Blutserums vermengt)

auf Typhusbacillen kräftig bactericid; diese Wirkung verschwindet nach dem Neutralisiren ebenso wie die der Glasextracte, nur wurde hier wie bei letzteren (s. Vers. 26—31) beobachtet, dass in mit phys. Kochsalzlösung versetztem Blutserum das Wachsthum der eingebrachten Bacterien ein besseres war. Ob dies darauf beruht, dass das Kochsalz den Bacterien besser entspricht als das kieselsaure Natron, oder ob die Neutralisation der Extracte resp. der Wasserglaslösungen eine unvollständige war, und so noch geringfügige Alkaliwirkung sich geltend machen konnte, soll dahin gestellt bleiben.

34. Versuch.

Reines Natriumsilicat wird in 1% Lösung in solchen Mengen mit Kaninchenserum und physiologischer Kochsalzlösung versetzt, dass sich folgende Concentrationen ergeben. Ausgesät: Typhusbacillus III.

Concentration der Lösung an Natr. Silic.	Verhalten der Bacterien in den einzelnen Proben nach 24 Stunden
5‰	Kein Wachsthum.
4‰	Kein Wachsthum.
3‰	Kein Wachsthum.
2‰	Leichte Opalescenz der Culturflüssigkeit
1‰	Deutliches Wachsthum.
5‰ neutralis.	Beträchtliche Vermehrung.

Wir haben schon einmal kurz erwähnt, dass wir von vornherein das Ergebnis der Löwit'schen Untersuchungen für unwahrscheinlich hielten, weil es uns schon vor geraumer Zeit niemals gelungen war, die bactericiden Stoffe der Leukocyten durch Verreiben derselben mit Quarzsand zu extrahiren.

Nachdem nun Löwit neuerdings betont hat, dass man die Zellen energisch zu zerreiben habe, um das gewünschte Resultat zu erzielen, und wir seinerzeit nur die anfangs gegebene Vorschrift Löwit's[1]) beobachtet hatten, nahmen wir die Versuche nochmals auf, gelangten aber auch jetzt zu keinem andern Resultat. Es gelang uns niemals, aus mono- oder polynucleären Leukocyten durch Verreiben mit Quarzsand, auch wenn die phys.

1) »So lange zu zerreiben, bis mikroskopisch keine intacten Zellen mehr erkannt werden können.«

Kochsalzlösung schwach alkalisch gemacht wurde, bactericide Stoffe in dieselbe überzuführen.[1] Dabei werden aber die Zellen ebenso rasch zerrieben als bei Anwendung von Glaspulver, so dass es nicht gerechtfertigt erscheint, etwa darin die Ursache der schlechten Erfolge zu erblicken, dass der Quarzsand sich zum Zerreiben minder gut eigne als das Glaspulver.[2] Wir haben übrigens auf andauerndes Verreiben besonders Werth gelegt, ohne die Resultate dadurch zu ändern.

Im Anschlusse an die Zerreibungsversuche der Fress- und Lymphzellen des Kaninchens wollten wir noch weiter sehen, wie sich andere nucleïnreiche Organe hiebei verhielten und prüften zu diesem Zwecke die isolirten Zellen der Kalbsthymusdrüse und jene der Halslymphdrüsen des Rindes.

Aber auch hier konnten wir keine veränderten Verhältnisse feststellen; die erwähnten Organzellen liessen keine bactericiden Stoffe extrahiren.

35. Versuch.

Isolirte polynucleäre Leukocyten werden in physiol. Kochsalzlösung mit Quarzsand intensiv verrieben; hierauf wird centrifugirt. Der Quarzsand setzt sich ziemlich rasch ab. Die Flüssigkeit erscheint nicht trübe, doch deutlich opalescirend. Reaction nicht alkalisch. Zu gleichen Theilen mit Blutserum vermengt (I); zur Controle physiol. Kochsalzlösung mit Serum gemischt (II). Ausgesät: Staphylococcus II.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		$2^1/_2$ Std.	6 Std.
I a	5 730	6 600	sehr viele
I b	5 800	6 800	sehr viele
II a	4 900	5 900	sehr viele
II b	5 500	6 100	sehr viele

1) Hiemit soll nicht gesagt sein, dass es nicht unter Umständen möglich sein könnte, durch Zerreiben von polynucleären Zellen, wenn man besonders energisch hiebei vorgeht und dann nicht ausreichend lang centrifugirt, bactericide Flüssigkeiten mit labilen Eigenschaften zu gewinnen; in einem solchen Falle könnte man aber nicht von einem »Extracte« sprechen, da wären das Wirksame die unvollständig entfernten Zelltrümmer Wir haben Aehnliches nie erfahren.

2) Quarzsand hat sich übrigens als Zerkleinerungsmittel schon oft bewährt; es sei hier nur an die Gewinnung der neuen Tuberculinpräparate (R. Koch) und an die Darstellung der »Zymase« (Buchner) erinnert.

36. Versuch.

Gleiche Anordnung wie in Versuch 35. Ausgesät: Typhusbacillus III.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		$2^1/_2$ Std.	9 Std.
I a	8 940	9 230	sehr viele
I b	9 600	9 410	sehr viele
II a	9 800	9 900	sehr viele
II b	9 720	9 650	sehr viele

37. Versuch.

Isolirte Zellen aus dem Pankreas aselli des Kaninchens. Sonst verfahren wie in Versuch 35. Ausgesät: Staphylococcus I.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		2 Std.	7 Std.
I a	3 740	3 800	sehr viele
I b	3 800	4 500	sehr viele
II a	4 100	4 600	sehr viele
II b	4 250	4 900	sehr viele

38. Versuch.

Gleiche Anordnung wie in Versuch 37. Ausgesät: Typhusbacillus II.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		4 Std.	$7^1/_2$ Std.
I a	10 600	sehr viele	∞
I b	11 200	sehr viele	∞
II a	9 900	sehr viele	∞
II b	10 800	sehr viele	∞

39. Versuch.

In ganz gleicher Weise wie bisher isolirte Zellen der Kalbsthymusdrüse; mit Quarzsand zerrieben. Den vorhergehenden Versuchen gleiche Anordnung. Ausgesät: Staphylococcus II.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	$6^1/_2$ Std.
Ia	3 700	5 800	sehr viele
Ib	3 950	6 100	sehr viele
IIa	3 660	5 750	sehr viele
IIb	3 800	5 800	sehr viele

40. Versuch.

Isolirte Zellen aus den Halslymphdrüsen des Rindes; gleiche Versuchsanordnung. Ausgesät: Staphylococcus I.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
Ia	7 900	12 800	sehr viele
Ib	7 540	15 600	sehr viele
IIa	7 400	9 300	sehr viele
IIb	7 450	10 600	sehr viele

41. Versuch.

Isolirte polynucleäre Leukocyten in einigen Cubikcentimetern einer 0,02 % NaOH enthaltenden physiol. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit Quarzsand verrieben. Hiebei quellen die Zellen erst auf und geben dann, bei weiterem Verdünnen des Zellbreis mit Kochsalzlösung eine weisslichtrübe Flüssigkeit von ziemlich grosser Viscosität. Weitere Anordnung den bisherigen Versuchen entsprechend. Ausgesät: Staphylococcus II.

Zellextract und Serum . . . . (I),
physiol. Kochsalzlösung und Serum . (II).

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
Ia	4 900	8 800	sehr viele
Ib	5 120	8 100	sehr viele
IIa	5 300	7 900	sehr viele
IIb	5 270	7 510	sehr viele

Was nun die Erklärung für den Ausfall der Löwit'schen Experimente anbelangt, so sind wir nicht im Stande, eine solche

zu geben[1]). Vermuthlich spielen hierin die von uns erwähnten Verhältnisse (Zurückbleiben des feinvertheilten Glaspulvers in den Versuchsproben) eine Rolle. Doch scheint es schwer, sie ganz allein hiefür verantwortlich zu machen. Vielleicht liegen andere Versuchsfehler vor; so neutralisirt Löwit mit einer starken Säure und wendet das Agarplattenculturverfahren an, das bereits von Denys und seinen Schülern als unzweckmässig erkannt worden war. Dass die Verschiedenheit der untersuchten Culturen von Bedeutung sein kann, müssen wir, wenn wir es auch natürlicher Weise von vornherein nicht direct in Abrede stellen können, doch als unwahrscheinlich ansehen, nachdem sich durch zahlreiche Arbeiten der letzten Jahre gezeigt hat, dass die einer Art angehörigen Stämme und Rassen so ziemlich den bactericiden Substanzen gegenüber das gleiche Verhalten zeigen.

Verschiedenheiten in dieser Richtung sind nur einige Male (Choleravibrio, Vibrio Metschnik.) im Zusammenhange mit einer besonders hohen Virulenz der Culturen beobachtet worden, im allgemeinen hat sich aber gezeigt, dass da gewisse Gesetzmässigkeiten angenommen werden können. So sind den Blutalexinen gegenüber die Choleravibrionen und Typhusbacillen empfindlich, während die Colonarten und die Staphylococcen von denselben nur in geringem Maasse beeinflusst werden, hiefür aber in Exsudaten, Aufschwemmungen isolirter Zellen rasch zu Grunde gehen. (Denys, Buchner, Hahn, Verf., Bail u. A.).

Dass Löwit eine besonders virulente Cultur etwa verwendet hätte — unsere Typhusstämme waren sämmtlich avirulent — ist

---

1) Dass die Wirkung der Glasextracte Alkaliwirkung ist, geht mit Wahrscheinlichkeit auch daraus hervor, dass jene Bacterien, die freiem Alkali gegenüber am empfindlichsten sind, auch in den Glasextracten am stärksten leiden. Wir haben keine systematischen Versuche hierüber angestellt, haben aber gefunden, dass die Staphylococcen I und II die, wie wir bei anderer Gelegenheit erfahren hatten (s. u.) von den untersuchten Culturen am wenigsten in alkalisirtem Blutserum beeinflusst wurden, auch in den Gaszellextracten am widerstandsfähigsten waren, während man nach den Untersuchungen, die bisher über die Staphylococcen vorliegen (Verf., Bail) gerade das Gegentheil erwarten müsste.

schon deshalb unwahrscheinlich, weil er sie offenbar durch längere Zeit im Laboratorium fortgezüchtet hat; ausserdem müsste man, höhere Virulenz vorausgesetzt, gerade erwarten, dass seine Cultur sich als widerstandsfähiger den vermeintlichen bactericiden Stoffen gegenüber erwiesen hätte als unsere Stämme, was eben nicht der Fall war.

Auch die Annahme, dass Löwit's Typhusbacillencultur besonders alkaliempfindlich war und deshalb im Zellglasextract zu Grunde ging, kann nicht befriedigen, nachdem sich ja in einem Theil seiner Versuche gezeigt hatte (Versuche mit Bouillon, Uschinsky'scher Flüssigkeit), dass dies nicht der Fall war[1]).

Die Löwit'schen Versuchsergebnisse können uns nicht abhalten, mit aller Bestimmtheit auszusprechen, dass man durch Zerreiben stark nucleïnhaltiger Zellen keine hitzebeständigen bactericiden Stoffe extrahiren kann, und dies um so weniger, als nach unserer Meinung Löwit einen Nachweis schuldig geblieben ist, den wir zwar nicht direct, aber doch laut genug gefordert hatten, den Nachweis, dass sich das gefährliche Glaspulver durch den unschädlichen Quarzsand ersetzen lässt.

Die Arbeiten Bail's.

Bail hat in diesem Archive, anschliessend an unsere vorläufigen Mittheilungen und fast gleichzeitig mit unserer ausführlichen Abhandlung, eine Reihe interessanter Versuche mitgetheilt, die sich mit der Extraction der bactericiden Stoffe aus den polynucleären Leukocyten beschäftigten. Die Methode, deren er sich hiebei bediente, basirte auf einer Entdeckung Van de Velde's. Der belgische Forscher hatte gefunden, dass

1) Eins wäre vielleicht nicht ganz auszuschliessen, dass Löwit's Cultur gerade dem suspendirten Glaspulver gegenüber besonders empfindlich war, insofern dadurch eine stetige Zunahme der Alkalescenz bedingt wird. Wegen des allgemeinen Interesses wollen wir hierüber gelegentlich Versuche anstellen.

virulente Staphylococcen sowohl im Körper der an der Infection zu Grunde gegangenen Versuchsthiere (im pleuritischen oder peritonealen Exsudate) als auch in künstlichen Culturen ein Stoffwechselproduct bilden, das sich für die weissen Blutkörperchen als ein intensives Zellgift erwies; dieselben gingen mit den durch Centrifugiren und Behandeln mit Aether zell- und keimfrei gemachten Exsudaten in Berührung gebracht, in kürzester Zeit zu Grunde, indem sie einer Art Zellauflösung unterliegen, die Bail in seinen ausführlich hierüber angestellten Untersuchungen genauer beschreibt. Van de Velde nennt dieses Gift Leukocidin. Die Zerstörung der weissen Blutkörperchen, der Schutzmannschaft des bedrängten Organismus, ist nach ihm der Grund für den tödtlichen Ausgang der Infection. Dieser Vorstellung liegt der von der Denys'schen Schule noch immer vertretene Standpunkt zu Grunde, dass die weissen Blutkörperchen durch einen Akt von Lebensthätigkeit, durch Secretion die bactericiden Schutzstoffe von sich geben (s. u.). Nun haben unsere Untersuchungen den Beweis erbracht, dass beim Absterben der Leukocyten deren bactericide Stoffe austreten, was schon durch die mit Exsudatflüssigkeiten angestellten Untersuchungen Buchner's und Hahn's wahrscheinlich gemacht worden war.

Wir haben weiter der Vermuthung Ausdruck gegeben, dass dies auch im Thierkörper der Fall sei.

Jetzt musste die Frage auftauchen, nachdem der einseitige Standpunkt der Denys'schen Schule als überwunden betrachtet werden konnte, was mit den bactericiden Stoffen der Leukocyten geschähe, wenn diese der Einwirkung des Leukocidins unterliegen.

Bail hat das Verdienst, zuerst hierauf eine Antwort gesucht zu haben.

Von vornherein war zu erwarten, dass dieselben geschädigt würden, nachdem ja die Thiere, sowie die leukocytenzerstörende Wirkung deutlich ausgesprochen war, zu Grunde gingen. Nach den Versuchen Bail's scheint dies nun nicht in dem Maasse der Fall zu sein. Bail konnte ermitteln, dass die bactericiden

Stoffe der Leukocyten durch die Einwirkung des Leukocidins nicht unwirksam werden, indem er bei dieser Behandlung der Zellen kräftig bactericide Flüssigkeiten gewann, welche auch nach Entfernung aller Zellreste sämmtlichen untersuchten Bacterienarten gegenüber wirksam waren. Bail hat allerdings in den meisten Fällen mit physiol. Kochsalzlösung verdünntes Leukocidin verwendet, doch war auch in jenen Versuchen, wo er sich des unverdünnten Leukocidins bediente, die bactericide Wirkung der Leukocytenstoffe erhalten geblieben. Leider sind die Erfahrungen Bail's über den Einfluss des concentrirten Exsudatplasmas nicht sehr ausgedehnte; er hat diese Seite der Frage nicht weiter verfolgt, indem es sich ihm mehr um die Gewinnung von Zellextracten, um die Feststellung einer Extractionsmethode handelte. Zu letzterem Zwecke eignete sich aber das unverdünnte leukocidinhaltige Exsudat nicht, weil es selbst in einigen Fällen bactericide Wirkungen entfaltet hatte.[1])

Die von Bail extrahirten Leukocyten stammten sowie in unsern Versuchen aus nach Buchner's Methode gewonnenen Aleuronatexsudaten; er hat aber die Zellen nicht isolirt, sondern bediente sich — anscheinend ohne es zu wissen — der von Denys geübten Methode. Er centrifugirte nämlich das dem Thier entnommene Exsudat und verwendete den Bodensatz ohne weitere Manipulationen; zur Controle stellte er Versuche an, wobei er statt der abcentrifugirten Leukocyten soviel Exsudatplasma dem verdünnten Leukocidin beifügte, als im besten Falle an und in den Zellen zurückgeblieben sein konnte. Unserem Isolirungsverfahren — dem Waschen der Leukocyten mit physiol. Kochsalzlösung — wirft Bail vor, dass hiedurch wohl das Exsudatplasma zwischen den Zellen, nicht aber die in die Zellen aufgenommene Flüssigkeit — und man müsse annehmen, dass die Leukocyten normaler Weise Flüssigkeit aus ihrer Umgebung aufnehmen — hiedurch entfernt werde.

1) Auf den darin gelegenen scheinbaren Widerspruch, dass in vitro die Leukocyten trotz Einwirkung des Leukocidins bactericid wirken, während man bei dem gleichen Vorgange im Thier ein Erlöschen dieser Function vermuthen würde, kann an dieser Stelle nicht eingegangen werden.

Wir gestehen offen, dass wir einen solchen, derart gestützten Einwand nicht erwartet hatten. Zahlreiche Erfahrungen der letzten Jahre haben doch die Ueberzeugung gefestigt, dass der Chemismus von Zelle und Körperflüssigkeit ein vollständig verschiedener ist, und dass man die alte Vorstellung, dass die Körperflüssigkeiten die Zellen gleichsam wie einen Schwamm allseitig durchdringen, nicht länger aufrecht erhalten kann.

Es soll hier nur an die Untersuchungen Bunge's über den Salzgehalt der rothen Blutkörperchen erinnert werden. Heutzutage ist man der Ansicht, dass das, was man in einer Zelle findet, mit ihrem Lebensprocesse zusammenhängt und nicht durch einfache Diffusion aus der Umgebungsflüssigkeit in dieselbe hineingelangt. So wird man also der Bail'schen Ansicht, dass in den weissen Blutkörperchen — grob mechanisch vorgestellt — unverändertes Exsudatplasma und damit auch dessen bactericide Substanzen vorhanden sein müssen, unmöglich zustimmen können. Der gegenseitige Austausch von gelösten Stoffen zwischen Zelle und Flüssigkeit, der selbstverständlich zum Leben der ersteren unbedingt nöthig ist, führt keineswegs zu einer gleichmässigen Anhäufung aller — sei es diffusiblen oder indiffusiblen — Bestandtheile letzterer in und ausserhalb der Zelle.

Eine andere Frage, die aber von der eben berührten völlig zu trennen ist, wäre die, ob nicht die Leukocyten, ebenso wie sie wohl im Stande sind, ihre bactericiden Stoffe an das Blut abzugeben, auch wieder solche Substanzen aus dem Blute in sich aufnehmen, in sich aufspeichern könnten — als Folge einer der Zelle anhaftenden Lebensthätigkeit. Dann wären die Leukocyten nicht so sehr die Producenten als vielmehr die Reservemagazine der Alexine. Auf welche Weise die bactericiden Stoffe in den Zellen entstehen, ob sie erst im Zellleib producirt oder von aussen aufgenommen werden (nach der Ansicht mancher Forscher aus dem Knochenmark) wissen wir nicht; wir wissen nur, dass sie in den Zellen vorhanden sind, und dies lässt uns die Betheiligung der Leukocyten an der Abwehr von Krankheitserregern nicht minder werthvoll erscheinen,

als wenn wir bestimmt erkannt hätten, dass sie die Bildner der Schutzstoffe sind.[1])

Wir wollen zu allem Ueberflusse noch besonders hervorheben, dass wir, lange bevor Bail unsere Versuchsanordnung kritisirte, bereits erfahren hatten, dass das den Leukocyten zugeschriebene Plasma in seiner Wirkung thatsächlich bedeutungslos ist, resp. dass die mit den Zellen erzielten bactericiden Leistungen nicht auf Rechnung mechanisch eingeschlossenen Exsudatplasmas gesetzt werden können.

Unsere Versuche hatten bereits ergeben, wie aus unsern kurzen Mittheilungen ersichtlich ist, dass, während (für unsere damals verwendeten Culturen s. u.) Exsudatplasma stets durch $^1/_2$ stündiges Erwärmen auf 60° C. inactivirt wird, Vollexsudat bei gleicher Behandlung häufig (dem Staphylococcus gegenüber stets) noch einen Theil seiner Wirksamkeit behält, und dass ebenso die mit inactivem Exsudat aus den Zellen hergestellten Extracte nicht völlig bei diesen Temperaturen ihre Activität verlieren.

Weiters waren uns die Resultate der Denys'schen Untersuchungen bekannt, in welchen sich auch stets, sowie bei Bail, herausgestellt hat, dass die Hinzugabe von einigen Tropfen Exsudatplasma zu den Controlproben das Versuchsresultat nicht beeinflusste.

Die weiteren Versuche Bails — wenn wir von einigen absehen wollen, die demonstriren sollten, dass auch im Thier eine Abgabe der bactericiden Stoffe unter Einwirkung des Leukocidins erfolge — beschäftigten sich hauptsächlich mit den Verschiedenheiten, welche die bactericiden Stoffe der Leukocyten und des Blutserums beim Erwärmen zeigen. Diese sollen, obwohl erst eine vorläufige Mittheilung (mit Protokollen) hierüber vorliegt, hier besprochen werden.

Bail hat zunächst gefunden, dass seine mit verdünntem Leukocidin (verdünntem Exsudat von an Staphylococceninfection zu Grunde gegangenen Thieren) gewonnenen Zellextracte durch

1) An eine mechanische Aufnahme der Umgebungsflüssigkeit durch die amöboiden Bewegungen der Leukocyten wird Bail wohl kaum gedacht haben?!

halbstündiges Erwärmen auf 55° nicht unwirksam werden und hat dies ursprünglich darauf bezogen, dass deren bactericide Stoffe durch den relativ hohen Kochsalzgehalt des Mediums — das leukocidinhaltige Exsudat wurde stets mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt — vor der Inactivirung geschützt würden, ähnlich wie dies Buchner für die Serum-Alexine angegeben und wie wir es vermuthungsweise auch für die Leukocytenstoffe ausgesprochen haben.[1]) Nach Bail's damaliger Ansicht genügte diese Erklärung vollständig zur Annahme der Identität der bactericiden Zellstoffe und der Alexine.

Später ist Bail zu einer ganz anderen Anschauung gelangt.

Zunächst unsere Mittheilungen, dass die isolirten und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Leukocyten einer Inactivirungstemperatur von 80 bis 85° bedürften, ferner die Arbeiten Löwit's, welche Bail trotz unserer Einwände für nicht widerlegt erklärt, bestimmten ihn, den Satz aufzustellen, dass es neben den labilen Alexinen hitzebeständige bactericide Stoffe in den Leukocyten gäbe, die u. a. auch in unsern Versuchen in Wirksamkeit getreten seien. Bail geht demnach noch viel weiter als wir, da wir die Möglichkeit ins Auge fassten, dass die Leukocyten von den Alexinen verschiedene bactericide Stoffe besässen, indem er neben diesen »hitzebeständigen« Substanzen auch noch die eigentlichen »Alexine« in den Leukocyten sucht.

Zu letzterer Annahme wurde er anscheinend dadurch geführt, dass seine mit Leukocidin gewonnenen Extracte schon bei 1 stündigem Erwärmen auf 65° unwirksam wurden; in ihnen seien demnach hauptsächlich die labilen Alexine enthalten. Wir können diese Auffassung unmöglich theilen.

Bail hat unsere Erklärung für das abweichende Verhalten der Zellkochsalzflüssigkeiten völlig ignorirt, obwohl sie auf positiver experimenteller Basis aufgebaut war. Wir haben gezeigt, dass die grössere Widerstandsfähigkeit der Zellkochsalzflüssigkeiten nichts Principielles bedeuten könne, sondern hauptsächlich — vielleicht ausschliesslich — durch das »einfache«, an

1) Wie schon öfter erwähnt, haben wir diese Ansicht später wesentlich modificiren müssen.

organischen, plasmatischen Stoffen arme Medium bedingt sei, indem kräftig bactericid wirkende, in Kochsalzlösung suspendirte Leukocyten, die eine halbe Stunde auf 60° erwärmt worden waren, durch nachträglichen Zusatz von plasmatischer Flüssigkeit fast ganz unwirksam gemacht werden konnten. Davon erwähnt Bail nichts, hingegen greift er eine andere von uns eingestreute Bemerkung — die wir übrigens zum Theil aufrecht erhalten müssen — auf, stempelt sie zur eigentlichen ausschlaggebenden Erklärung und — widerlegt sie. Bail behauptet, wir hätten angegeben, dass die Widerstandsfähigkeit der bactericiden Leukocytenstoffe auf quantitativen Verhältnissen beruhe, indem Exsudate, in denen man durch Centrifugiren die relative Leukocytenmenge um das Doppelte oder Dreifache steigere, ebenfalls durch ½ stündiges Erwärmen auf 60° nicht unwirksam würden.

Davon ist bei uns nichts zu lesen.[1]) Wir haben nur gesagt: »es spielen quantitative Verhältnisse eine Rolle« und dies ist auch der Fall. Wenn dies auch bei Aussaat des Staphylococcus wegen dessen hoher Empfindlichkeit nicht immer klar zu Tage tritt, was wir gerne zugeben, so ist es ohne weiters für das bacterium coli ersichtlich zu machen. Wir haben neuerdings 2 Versuche angestellt, die unsere Anschauung zweifellos rechtfertigen.

42. Versuch.

Vollexsudat von einem Kaninchen. 2 Proben à 1 ccm werden ½ Stunde auf 58° C. erwärmt (I), 8 ccm desselben Exsudats werden centrifugirt, und von der klaren Flüssigkeit werden 6 ccm abpipettirt; der Rest mit den Zellen wird aufgeschüttelt, zu gleichen Theilen in 2 Röhrchen vertheilt und gleichfalls ½ Stunde auf 58° erwärmt (II). Ausgesät: Bact. coli I.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten: Gleich nach Aussaat	Nach 3 Std.	Nach 10 Std.
Ia	2 900	sehr viele	∞
Ib	2 760	sehr viele	∞
IIa	3 120	210	11
IIb	2 860	170	32

1) In unserer 2. vorläufigen Mittheilung haben wir es sogar ausdrücklich ausgesprochen, dass quantitative Verhältnisse die Erklärung nicht liefern können.

43. Versuch.

Gleiche Anordnung wie in Versuch 42. Ausgesät: Bact. coli. II.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		4 Std.	8 Std.
Ia	5 720	sehr viele	∞
Ib	6 140	sehr viele	∞
IIa	6 950	590	820
IIb	6 300	1 200	730

Ausser aus unsern und Löwit's Untersuchungen schliesst Bail auch aus eigenen Versuchen auf das Vorhandensein von zweierlei bactericiden Stoffen in den Zellen. Er hat bei Heranziehung einer grossen Anzahl der verschiedensten Bacterien eine gewisse Gesetzmässigkeit im Verhalten des auf 55° eine Stunde lang erwärmten Vollexsudats constatiren können. Einer Gruppe von Bacterien gegenüber war es hiedurch unwirksam geworden, während sämmtliche Staphylococcen — und einige Colonstämme noch darin beeinflusst wurden. Bail sagt nun selbst, dass dies darauf beruhen könne, dass der Staphylococcus und das Bact. coli den Leukocytenstoffen gegenüber am empfindlichsten seien; er nimmt aber lieber zu einer anderen — für uns viel gezwungeneren — Erklärung Zuflucht: er meint, dass im erhitzten Vollexsudate nur mehr die hitzebeständigen Stoffe der Leukocyten übrig seien, welche dann dem Staphylococcus und dem bact. coli gegenüber wirksam seien, während alle anderen Bacterien (B. typhi, vibr. cholerae as. etc.) von letzteren überhaupt nicht beeinflusst würden.[1]) Wir halten die erste Erklärung Bail's für die richtige.

Wir haben seinerzeit angegeben, dass im Gegensatz zum Verhalten der isolirten Zellen und theilweise auch des Vollexsudats das Exsudatplasma fast stets durch 10 Minuten langes Erwärmen auf 60° seiner bactericiden Fähigkeit beraubt wird.

1) Ein eigenthümlicher Gegensatz zu den später erwähnten Versuchen Bail's und zu den Versuchen Löwit's, in denen sich die Typhusbacillen so empfindlich gezeigt hatten!

Bail findet nun, dass dies nicht der Fall sei, und dass in allen Fällen, in denen das Vollexsudat noch nach dem Erhitzen auf 60° wirksam blieb, auch das Plasma bei dieser Temperatur nicht inactivirt wurde.

Die Versuchsergebnisse Bail's lassen sich nicht völlig bestreiten; das Plasma scheint wirklich besonders empfindlichen Staphylococcenstämmen gegenüber nach 1 stündigem Erwärmen auf 55° noch einen Theil seiner Wirksamkeit zu bewahren. Wir haben dies selbst bei neuerdings angestellten Versuchen an einem Staphylococcusstamme erfahren; fünf andere Staphylococcenstämme und alle Colonrassen vermehrten sich aber darin. Dieses ausnahmsweise Verhalten des Plasmas — das übrigens nicht ohne Analogie ist[1]) — kann uns in unsern damals gezogenen Schlussfolgerungen, wonach die Inactivirbarkeit der bactericiden Flüssigkeiten nicht nur von der Labilität der darin wirksamen Substanzen, sondern auch von deren Bindung, von dem Medium, in dem sie sich befinden, abhängt — nicht wesentlich beirren.

Der Unterschied in dieser Beziehung zwischen Plasma und Vollexsudat, namentlich aber zwischen Plasma und den in Kochsalzlösung oder stark verdünntem Exsudat suspendirten Zellen ist stets ein grosser.

Auffallend ist bei Bail in einem Versuche der einschlägigen Reihe[2]), dass isolirte Leukocyten in verdünntem inactiven Exsudate aufgeschwemmt, nach erfolgtem 1 stündigen Erwärmen auf 55° die ausgesäten Typhusbacillen abtödteten, während so behandeltes Vollexsudat den gleichen Bacterien gegenüber wirkungslos geworden war. Wie lässt sich da die Ansicht Bail's aufrecht erhalten, dass die hitzebeständigen Stoffe der Leukocyten den Bacterien vom »Typus« des Typhusbacillus oder Choleravibrio gegenüber von vornherein unwirksam sind?!

1) So hat Sawtchenko (Ann. de l'inst. Pasteur, 1897, Decemberheft) mitgetheilt, dass das Rattenblutserum vollvirulenten Milzbrandbacillen gegenüber durch einstündiges Erhitzen auf 60° seine Activität nicht vollständig einbüsst.

2) Berl. klin. Wochenschr., 1898. Nr. 22, Tab. V.

Wie kann man hiefür überhaupt eine Erklärung geben, wenn man nur die Inactivirungstemperatur als Maassstab für die Labilität der bactericiden Stoffe ansieht und dieselben streng nach den Temperaturgraden, die zur Inactivirung erforderlich sind, einreiht, die so bedeutsamen secundären Verhältnisse, von denen wir schon ausführlich gesprochen haben, aber grundsätzlich vernachlässigt[1]). Oder sollten aus den im verdünnten Exsudat aufgeschwemmten Leukocyten etwa andere bactericide

---

1) Bei dieser Gelegenheit wollen wir noch einmal auf einen Umstand die Aufmerksamkeit lenken, der sicherlich für manche Fälle in der Technik der bactericiden Versuche die Erklärung liefert. Es ist dies die durch verschiedene Ursachen bedingte, wechselnde Maceration der Zellen, wodurch auch ein wechselndes Freiwerden der bactericiden Stoffe zustande kommt. Zusammengeballte Zellen werden sehr schlecht extrahirt. Dies war bei unsern früheren Versuchen unschwer ersichtlich So wirkten die gleichen in physiologischer Kochsalzlösung suspendirten Leukocyten nach wiederholtem Einfrieren — wobei sie sich stark zusammenballen — schwächer bactericid als die in unverändertem Zustande auf 50 bis 60° erwärmten Zellen; ebenso wird der Umstand, dass isolirte, wiederholt eingefrorene Leukocyten nach dem Erwärmen manchmal eine verstärkte bactericide Wirkung zeigen, nur darauf zurückzuführen sein, dass durch das Erwärmen eine bessere Vertheilung der Zellklumpen, eine bessere Maceration derselben erfolgt, welche die zweifellos erfolgte Schädigung der bactericiden Zellstoffe übercompensirt. Ebenso wird die Maceration der Zellen bei sonst gleicher Procedur vom Medium abhängen müssen. So haben wir zeigen können, dass die im Vollexsudate erwärmten Leukocyten, nachträglich isolirt und in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, viel schlechter bactericid wirkten als die sonst gleichbehandelten, aber von vornherein in physiologischer Kochsalzlösung erwärmten Zellen.

Ebenso ist es nicht gleichgültig, ob man die Zellen im Vollexsudat (also im activen Plasma) oder ob man sie nach dem Isoliren im inactiven Plasma erwärmt.

Schon durch das Isoliren werden die Zellen für die Extraction viel geeigneter, indem hiebei Fibrinhüllen zerschüttelt, Zellconglomerate fein vertheilt werden; die lästige Gerinnung, die im Vollexsudat regelmässig einsetzt und die Zellen in groben Flocken abscheidet, wird hiedurch vermieden. Dann ist weiter der Vorgang während des Erwärmens in beiden Fällen nicht der gleiche. Erwärmt man Vollexsudat, so tritt bestimmt Gerinnung ein, und die Zellen haften nachträglich dem Boden des Röhrchens fest an, so dass sie sich kaum aufschütteln, geschweige denn fein vertheilen lassen; erhitzt man sie aber nach dem Isoliren in inactivem Plasma, so bleibt selbstverständlich die Gerinnung aus, die Zellen vertheilen sich leicht in der Flüssigkeit und werden infolge der specifischen Wirkung des

Stoffe, vielleicht eine dritte Art, extrahirt werden, wie aus den Zellen des Vollexsudats?

Bail hat weiter seine Ansicht dadurch zu stützen versucht, dass er eine Trennung der labilen von den hitzebeständigen Substanzen herbeizuführen trachtete.

Versetzt man Exsudatplasma mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure, so entsteht ein massiger Niederschlag, der sich beim Centrifugiren unschwer absetzt und mit neutraler physiologischer Kochsalzlösung leicht bis auf neutrale Reaction der Waschflüssigkeit ausgewaschen werden kann. Säuert man Blutserum in gleicher Weise an, so tritt höchstens eine wolkige Trübung auf. Dieser Essigsäureniederschlag im Plasma sollte nun den hitzebeständigen bactericiden Stoffen desselben entsprechen, jedenfalls aber nach Bail im Zusammenhange mit der bactericiden Wirksamkeit desselben stehen.

Dies schloss er daraus, dass er im Plattenzählversuche eine deutliche Entwicklungshemmung, ja Abnahme der Keimzahl ausgesäter Staphylococcen in einem an sich günstigen Medium beobachten konnte, sobald er darin den Essigsäureniederschlag aus dem Plasma auflöste. Zur Lösung diente ihm eine Flüssigkeit, die 1 Theil inactiven Serums auf 5 Theile physiologischer Kochsalzlösung mit einem Gehalte von 0,02% NaOH enthielt.

---

inactiven Exsudats auch vortrefflich ausgezogen. So erklärt es sich, warum stets Vollexsudat nach dem Erwärmen auf das bact. coli nicht mehr bacterientödtend einwirkte, während öfters mit inactivem Plasma erwärmte Zellen — besonders wenn man sie vor dem Erwärmen wiederholt eingefroren und aufgethaut hat, was ebenfalls wesentlich zur besseren Extraction beiträgt — noch deutliche, manchmal sehr starke Wirkungen auf dieses Bacterium entfalteten. Auf diese Weise dürfte sich auch der scheinbare Widerspruch in den Bail'schen Versuchen erklären. Bail sagt, dass verdünntes Exsudat sich wie unverdünntes verhielt, demnach nach dem Erwärmen auf 55° für den Typhusbacillus zum Nährboden geworden war; weiter theilt er aber, wie schon erwähnt, mit, dass isolirte Zellen in verdünntem inactiven Serum aufgeschwemmt, nach dem Erwärmen auf 55° noch kräftig auf den gleichen Stamm bactericid wirkten. Abgesehen davon, dass vermuthlich in letzterem Falle mehr Zellen in Wirksamkeit treten konnten (?), dürften vielleicht die eben erläuterten Verhältnisse hiebei eine Rolle spielen.

Wir haben für 6 Staphylococcenstämme und 3 Colonstämme diese Versuche nachgeprüft und konnten niemals, wie wir uns durch das Mikroskop überzeugten, eine das Bacterienwachsthum hemmende Wirkung dieses Niederschlags beobachten. Freilich der Plattenzählversuch täuschte bei Aussaat von Staphylococcen stets eine solche vor. Wir haben bereits in unserer ersten Mittheilung darauf aufmerksam gemacht, dass der Staphylococcus öfter ein ausgesprochenes Haufenwachsthum zeigt, so dass es nicht möglich ist, den hiemit angestellten Plattenzählversuch als einwandfrei zu betrachten, indem ja auf den Platten ein Coccenhaufen ebenso wie ein einzelner Keim zu einer Colonie anwächst. Stellt man nun Versuche in der von Bail angegebenen Weise an, so kann man regelmässig in der Niederschlagslösung Haufenwachsthum des Staphylococcus beobachten, das in der Controlflüssigkeit fehlt.

Dieses Haufenwachsthum — wobei Conglomerate von mehreren Hundert Individuen vorkommen — beruht offenbar auf mechanischen Verhältnissen. Bald nämlich nach der Lösung des Niederschlags treten in der Flüssigkeit feine Fällungen auf, die anscheinend gerade um die Staphylococcen sich bilden und diese einhüllen. Die Folge davon ist, dass eine freie Proliferation derselben unmöglich wird, und diese sich wie auf einem festen Nährboden zu kleinen Zooglöen entwickeln müssen. In einigen Fällen war die Ausscheidung des ursprünglich vollkommen klar gelösten Niederschlages so stark, dass sich am Boden des Röhrchens Flocken bildeten, welche bei mikroskopischer Beobachtung sich mit Staphylococcen dicht durchsetzt zeigten, während die Flüssigkeit vollkommen klar blieb. Wir haben in einem dieser Fälle einen Plattenzählversuch ausgeführt, der eine wesentliche Abnahme der Keime hätte vermuthen lassen müssen, wenn wir nicht durch mikroskopische Beobachtung die ungestörte Entwicklung derselben im Niederschlage hätten constatiren können.

Dass das Haufenwachsthum — so wie wir es bei früherer Gelegenheit einmal angenommen haben (ds. Archiv Bd. 31, S. 25) — hier der Ausdruck einer gehemmten Entwicklung, einer schwachen bactericiden Wirkung sei, halten wir für unwahrscheinlich.

Hiegegen spricht das mikroskopische Bild, indem man, auch wenn mit blossem Auge nichts wahrzunehmen ist, stets die grösseren Haufen von membranartigen Hüllen umgeben sieht.

Gegen die Bedeutung dieses Niederschlags spricht auch weiters die Ueberlegung, dass man von einer im Plasma in so grosser Menge vorhandenen Substanz viel stärkere Wirkungen erwarten müsste, als sie in einem vom Beginn des Versuches an ungehemmten Haufenwachsthum zu Tage treten können. Wollte man aber daran festhalten, dass das Haufenwachsthum durch chemische Ursachen bedingt sei, wäre man nach unserer Ansicht eher berechtigt, an aus dem Exsudate mitgerissene active Stoffe zu denken, die sich schlecht auswaschen lassen, als an selbstständige bactericide Wirkungen des Niederschlags.

Die Thatsache, dass die scheinbar bactericide Wirkung desselben in den Bail'schen Experimenten nach Erwärmen auf 60° vermindert wurde, nach Erwärmen auf 85° vollständig verschwunden war, spricht nicht gegen unsere Ansicht, sondern erklärt sich dadurch, dass in den erwärmten Proben — offenbar indem hier keine Ausscheidung von gelösten Stoffen erfolgte — kein oder nur ein schwächeres Haufenwachsthum constatirt werden konnte (s. auch w. u.).

Weiter spricht gegen die Bedeutung der Essigsäurefällung das Verhalten sämmtlicher Colonstämme. Alle blieben von Anfang an vollkommen davon unbeeinflusst, ja vermehrten sich sogar manchmal in der Niederschlaglösung rascher als in der Controlflüssigkeit — was übrigens auch einmal bei einem Versuche mit Staphylococcen constatirt werden konnte. Dies kommt daher, dass in einer Flüssigkeit, welche den erwähnten Alkalescenzgrad zeigt, sich öfters schon geringfügige Hemmung infolge des freien Alkalis geltend macht, während die Niederschlaglösung, die infolge der Bindung eines Theiles des freien Alkalis an den Niederschlag stets eine schwächere Alkalescenz zeigen muss, günstigere Wachsthumsbedingungen bietet.

Wir halten demnach den Essigsäureniederschlag aus dem Exsudatplasma nicht für eine bactericide Substanz, sondern für einen Bacteriennährstoff, der aus den Leukocyten bei deren

Auflösung in das Plasma gelangt und der — wie auch Bail vermuthet — dem Nucleohiston entsprechen dürfte.[1])

44. Versuch.

5 ccm Exsudatplasma werden mit verdünnter Essigsäure gefällt, der reichliche Niederschlag centrifugirt und bis zum Verschwinden der sauern Reaction des Waschwassers mit neutraler physiol. Kochsalzlösung ausgewaschen. Der Niederschlag wird in 5 ccm einer Flüssigkeit gelöst, die 5 ccm physiol. Kochsalzlösung, 1 ccm inactiven Serums und 0,02 % Na OH enthielt. Niederschlaglösung (I), Lösungsflüssigkeit (II). Ausgesät: Staphylococcus.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	9 Std.
Ia	7 420	5 600	1 080
Ib	6 970	4 900	970
IIa	6 830	8 300	sehr viele
IIb	7 500	9 200	sehr viele

In letzterem Versuche war die oben besprochene starke Flockenbildung eingetreten.

45. Versuch.

Gleiche Anordnung wie in Versuch 44. Ausgesät: Bact. coli I.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
Ia	3 640	8 700	∞
Ib	3 200	7 900	∞
IIa	3 100	6 200	sehr viele
IIb	3 420	5 200	sehr viele

1) Dass in den mit Bact. coli angestellten Versuchen nicht ebenfalls Abscheidung der Bacterien oder etwa Fadenwachsthum, Zooglöenbildung wie bei Aussaat des Staphylococcus eintrat, dürfte mehrere Ursachen haben. Einmal bietet das kleine Stäbchen des bact. coli den einhüllenden Niederschlägen keine so grosse Oberfläche wie die Häufchen des Staphylococcus, die in geringer Ausbildung (3 bis 10 Individuen) wohl stets beobachtet werden können, weiter ist es beweglich und schliesslich bildet es vielleicht infolge seiner viel grösseren Wachsthumsenergie früher die Enzyme, welche die Ausscheidungen wieder in Lösung bringen (?)

46. Versuch.

Gleiche Anordnung wie Versuch 44. Ausgesät: Bact. coli II.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3½ Std.	7 Std.
Ia	9 500	sehr viele	∞
Ib	10 700	sehr viele	∞
IIa	10 100	sehr viele	∞
IIb	9 800	sehr viele	∞

47. Versuch.

Gleiche Anordnung wie in Versuch 45. Ausgesät: Bact. coli III.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		2 Std.	6 Std.
Ia	4 300	6 500	sehr viele
Ib	4 500	5 900	sehr viele
IIa	3 900	4 870	sehr viele
IIb	4 650	5 300	sehr viele

Bail glaubte, nicht nur aus dem Exsudatplasma, sondern auch aus den Zellextracten die hitzebeständigen Stoffe isoliren zu können. Er zog hauptsächlich Extracte in Betracht, die er durch Erwärmen der isolirten Zellen in alkalischer Kochsalzlösung gewonnen hatte[1]). Aus diesen fällte er wieder mit Essigsäure das nach seiner Meinung wirksame Princip aus. Löste er den Niederschlag in alkalisirtem, inactivirtem verdünnten Blutserum auf, so wirkte in einem Versuche (Tab. VIII) diese Flüssigkeit auf zwei Colonstämme deutlich entwicklungshemmend, nach ½ stündigem Erwärmen auf 85° blieb deren Wirksamkeit nur noch für einen der beiden Stämme erhalten, während sie für den andern so gut wie erloschen war. Dabei hatte der Zellextract, aus dem der wirksame Stoff nach Bail ausgefällt

1) Bail gebraucht für diese Extracte den Ausdruck »Extract Schattenfroh.« Dies beruht jedenfalls auf einem Irrthum, indem wir niemals zur Extraction der Zellen freies Alkali in Anwendung zogen.

werden konnte, der in diesem Falle durch Erwärmen der Zellen mit der Lösungsflüssigkeit des Niederschlags (dem verdünnten alkalisirten Serum) bereitet wurde, nur sehr schwach bactericid gewirkt — viel schwächer als die Niederschlaglösung.

Diese Resultate Bail's sind vollkommen richtig, aber von ihm falsch gedeutet worden. Bail hat nämlich unterlassen, die Lösungsflüssigkeit für sich hinsichtlich ihres Verhaltens gegenüber den untersuchten Bacterien zu prüfen; sonst hätte er erfahren, dass auch ohne dass der Extractniederschlag darin aufgelöst wird, die Bacterien in derselben zu Grunde gehen.

Wir haben eine Reihe daraufzielender Versuche mit 4 Colonstämmen angestellt, und hiebei hat sich stets gezeigt, dass eine Flüssigkeit, die 0,05% Na OH, dabei 1 Theil inactiven Serums auf 15 Theile physiologischer Kochsalzlösung enthielt, infolge ihres hohen Alkalescenzgehaltes die ausgesäten Bacterien abtödtete. Wenn man den Essigsäureniederschlag darin auflöste, so wurde diese bactericide Wirkung wesentlich herabgemindert, vollständig fehlte sie in den Extracten — wir erhielten mit den Bail'schen Zahlen genau übereinstimmende Versuchsergebnisse. Dass der Extract gar keine und die Niederschlaglösung eine schwächere Alkaliwirkung entfalteten als die Lösungsflüssigkeit, rührt (s. o.) wieder davon her, dass in ihnen ein Theil des freien Alkalis — im Extract vermuthlich noch mehr als in der Niederschlaglösung infolge seines Eiweissgehalts — an die organischen Substanzen gebunden sein dürfte.[1])

Gerade der Umstand, dass der Extract, der mit der Lösungsflüssigkeit des Niederschlags gewonnen war, nicht bactericid wirkte, — der Controlversuch Bail's — dürfte ihn dazu bestimmt haben, dem Essigsäureniederschlag die besprochene Bedeutung beizulegen.

Wir haben die Versuche, um von allen labilen und halblabilen Stoffen von vornherein absehen zu können, auch mit

---

1) Vielleicht sind auch im Extract die Nährverhältnisse besser, so dass das freie Alkali sich in seiner schädigenden Wirkung nicht geltend machen konnte.

Extracten der Kalbsthymusdrüse angestellt, die wir derart bereiteten, dass wir die fein gehackte Thymusdrüse erst in der Reibschale mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben, dann in einen Kochkolben einbrachten und mit noch etwas physiologischer Kochsalzlösung im Dampftopf eine Stunde erhitzten.

Die filtrirten, dann fractionirt sterilisirten Flüssigkeiten, vollkommen klar und von gelblicher Farbe, dienten uns zum Versuche. Wir brachten zunächst die Extracte durch Zusatz von Serum und 1 proc. Natronlauge auf die Concentration der Bail'schen Lösungsflüssigkeit, fällten dann aus einer Portion durch Essigsäure das Nucleohiston aus und lösten dasselbe nach dem Waschen in der verwendeten Flüssigkeit.

Wir gelangten hier zu den gleichen Resultaten wie bei den Versuchen mit polynucleären Leukocyten. Im Extract vermehrten sich die ausgesäten Colonbacterien schrankenlos; in der Niederschlaglösung herrschte Entwicklungshemmung, und in der Lösungsflüssigkeit gingen sie zu Grunde.

Bei diesen Versuchen hatten wir eine interessante Beobachtung gemacht, die ebenfalls zur Erklärung der Bail'schen Versuchsergebnisse herangezogen werden muss. Erwärmt man nämlich ein alkalisirtes verdünntes Serum vom Kaninchen oder vom Rinde, das infolge seiner Alkalescenz eine Vermehrung der eingebrachten Bacterien nicht mehr zulässt oder sogar ein Absterben derselben bewirkt, eine halbe Stunde auf 85°, so ist es für einige Bacterien zu einem, mehr oder minder guten — das hängt von der Alkaliconcentration ab — Nährboden geworden. Für andere Bacterien ist der Unterschied vor und nach dem Erwärmen nicht so deutlich ausgesprochen, indem dieselben dann auch noch im erwärmten Serum zu Grunde gehen; diese Differenzen dürften wohl nur durch die verschiedene Empfindlichkeit der einzelnen Arten gegenüber freiem Alkali bedingt werden.

Das Unwirksamwerden des alkalisirten Serums nach dem Erwärmen kann nicht darauf beruhen, dass etwa noch dem Blutserum bactericide Fähigkeiten innewohnten, dass also unvollständig inactivirtes Blutserum verwendet worden wäre, indem wir besonders Werth darauf gelegt haben, das Serum zu diesem Zwecke — durch

stundenlanges Erwärmen auf 60° — ausreichend zu inactiviren. Wir haben uns übrigens durch Controlversuche vor Irrthümern geschützt, indem wir das verwendete Serum in neutraler Lösung mit und ohne Erwärmen prüften; hiebei zeigte sich niemals irgend eine hemmende Wirkung desselben, niemals bot es nach abermaligem Erwärmen den Bacterien günstigere Bedingungen.

Das Unwirksamwerden des alkalisirten Serums wird wohl darauf zurückzuführen sein, dass beim Erwärmen das ganze Bluteiweiss oder vielleicht ein Theil desselben in Alkalialbuminat übergeht, wodurch eine Verminderung der Alkalescenz bedingt werden muss [1]).

Gerade so wie das alkalisirte Blutserum verhielten sich auch die »Niederschlaglösungen«, indem auch sie nach dem Erwärmen eine raschere Vermehrung einzelner Bacterien zuliessen; für andere Bacterien war das Erwärmen wieder irrelevant.

Die scheinbare Inactivirung der Niederschlaglösung ist also nichts anderes als eine Alkalescenzverminderung.

48. Versuch.

Isolirte Leukocyten mit einer Flüssigkeit, die 1 Theil inactiven Serums, 15 Theile physiol. Kochsalzlösung und 0,05% NaOH enthielt, 1/2 Stunde auf 55° erwärmt. Hiebei quellen die Zellen stark auf und setzen sich nur schwer beim Centrifugiren ab; aus dem Extract (I) wird durch Fällen mit Essigsäure der Nucleohistonniederschlag gefällt, der noch viele geschrumpfte Zellen einschliesst. Derselbe wird nach dem Waschen in der schon beschriebenen Flüssigkeit gelöst (II). Ein Theil der Niederschlaglösung auf 85° 1/2 Stunde erwärmt (III), Lösungsflüssigkeit (IV) zum Theil 1/2 Stunde auf 85° erwärmt (V). Ausgesät: Bact. coli I.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach 3 Std.	Nach 8 Std.
Ia	5 260	5 100	sehr viele
Ib	4 950	5 600	sehr viele

1) Das Alkali kann also sowohl dadurch gebunden werden, dass es in der Kälte zur Lösung eines Niederschlags verwendet wird, als auch dadurch, dass es beim Erwärmen sich mit dem Eiweiss verbindet — im Grunde genommen ein und dasselbe.

Diese Bindung des freien Alkalis beim Erwärmen kann auch mit die Ursache sein, weshalb die Bail'schen Extracte, die ja durch Erwärmen der Zellen mit alkalisirtem Serum dargestellt wurden, nicht ihrem Alkalescenzgrad entsprechend bactericid wirkten.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
II a	5 850	2 600	2 970
II b	5 700	2 930	3 200
III a	5 660	9 800	sehr viele
III b	5 940	10 300	sehr viele
IV a	5 430	218	15
IV b	5 210	112	80
V a	4 750	3 960	9 600
V b	4 830	4 750	11 200

49. Versuch.

Gleiche Anordnung wie im vorhergehenden Versuch. Lösungsflüssigkeit 0,04 % NaOH enthaltend. Ausgesät: Bact. coli II.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	8 Std.
I a	4 260	4 400	15 600
I b	3 920	3 800	14 900
II a	4 480	1 200	1 860
II b	4 370	980	1 210
III a	4 720	1 630	2 580
III b	4 150	1 270	2 740
IV a	4 390	85	75
IV b	4 600	61	83
V a	4 590	120	290
V b	4 580	143	196

50. Versuch.

Thymusdrüsenextract. Lösungsflüssigkeit des Niederschlags 0,05 % NaOH enthaltend. Sonstige Anordnung wie in den vorhergehenden Versuchen. Ausgesät: Staphylococcus I.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	$8^1/_2$ Std.
I a	2 750	4 800	sehr viele
I b	2 930	5 200	sehr viele
II a	3 200	3 100	5 300
II b	3 180	2 730	6 100

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	$8^1/_2$ Std.
III a	2 810	3 900	sehr viele
III b	2 650	4 160	sehr viele
IV a	2 520	810	740
IV b	2 970	760	950
V a	3 800	3 200	8 500
V b	3 050	2 740	9 080

51. Versuch.

Gleiche Anordnung wie in Versuch 50. Ausgesät: Bact. coli I.

Inhalt der Röhrchen	Anzahl der Colonien auf den Platten:		
	Gleich nach Aussaat	Nach	
		3 Std.	9 Std.
I a	4 360	sehr viele	∞
I b	4 100	sehr viele	∞
II a	4 080	1 830	2 900
II b	3 720	1 560	2 730
III a	3 900	6 500	sehr viele
III b	3 840	6 360	sehr viele
IV a	3 790	81	71
IV b	3 800	52	93
V a	4 430	4 590	25 800
V b	4 200	4 400	31 750

Elf andere Versuche, ganz gleich angestellt, verliefen in durchaus analoger Weise (auch diejenigen, in welchen die Flüssigkeiten eine Alkalescenz von 0,02 bis 0,03% NaOH zeigten, hatten im Princip das gleiche Resultat). Stets wurde einerseits das alkalisirte Serum durch Erwärmen für gewisse Bacterien zu einem Nährboden oder verlor wenigstens seine schädigende Wirkung auf dieselben, und anderseits wurde die Wirkung desselben niemals durch Lösung des Niederschlags erhöht.

Sowohl Bail als Löwit bringen ihre hitzebeständigen bactericiden Stoffe mit Nuclëin und Nuclëinsäure in Beziehung. Zweifellos ist auch das, was die beiden Autoren für das Wirksame in ihren Versuchen halten, also sowohl die Essigsäurefällung aus den Löwit'schen Zellextracten (freilich ist hier

stets auch etwas Glaspulver mit eingeschlossen), als auch die Essigsäurefällung aus dem Exsudatplasma und aus den Bail-schen Extracten — Nucleohiston. Das Verhalten gegen Essigsäure und der Umstand, dass das Blutserum diese Fällung nicht gibt (also keine Globuline!) erlauben wohl einen solchen Schluss.

Nun haben wir schon wiederholt ausgesprochen, dass das Nucleohiston den bactericiden Wirkungen der Leukocyten vollkommen ferne steht. Auch Kossel gibt dies zu.[1])

---

1) Kossel wendet sich in seiner letzten Abhandlung (Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 27) gegen eine von uns gemachte Bemerkung, womit er bewies, dass er uns vollständig missverstanden hat. Wir haben nicht im Entferntesten daran gedacht, die bactericide Wirkung der Nucleïnsäure in vitro, die er ja bewiesen hat, als Hypothese hinzustellen, sondern wir haben nur unserer Ansicht Ausdruck geben wollen, dass wir nicht glauben, dass dasjenige, was in der Zelle, speciell aber in den Zellextracten wirksam ist, lose gebundene Nucleïnsäure sei. Vielleicht haben wir uns zu wenig deutlich ausgedrückt. In einem aber müssen wir Kossel beipflichten, dass seine Theorie deshalb noch nicht zu Grabe getragen werden muss, weil das Nucleohiston nicht bactericid wirkt; es könnten hier wirklich Verschiedenheiten in der Bindung der Nucleïnsäure vorliegen.

Der Hauptgrund, warum wir nicht an die hypothetische Bedeutung der Nucleïnsäure glauben, ist der, dass wir nicht gerne zweierlei bactericide Stoffe in der Zelle annehmen. Denn das, was wir aus der Zelle extrahiren, sowie das Wirksame im Exsudatplasma und im Blutserum ist sicherlich nicht freigewordene oder freiwerdende Nucleïnsäure. Nach all' unsern Vorstellungen über Bindung von Säuren können wir an derartiges in alkalischen und alkalisirten Flüssigkeiten nicht denken. Dann müsste man ferner gerade den polynucleären Leukocyten solche schwach gebundene Nucleïnsäure zuschreiben, indem bei ganz den gleichen Manipulationen aus Lymphzellen keine bactericiden Extracte gewonnen werden können.

Ferner — und dies erscheint uns als nicht ganz unwesentlich — gehen die aufgenommenen Bacterien nicht im Kern der Leukocyten, sondern in deren Plasma zu Grunde, und es ist die Frage, ob man da eine beständige Abgabe der Nucleïnsäure aus dem Kern an das Plasma annehmen kann. Weiters erscheinen in Exsudaten, die sicher durch von den Zellen abgegebene Stoffe bactericid wirken, die Kerne der meisten Leukocyten gut erhalten, so dass es oft schwer fällt, eine solche z. B. durch Gefrieren getödtete — und bactericid wirkende — Zelle von einer lebenden zu unterscheiden. — — —

Wir wollen ja durchaus nicht behaupten, dass wir die Kossel'sche Hypothese widerlegt hätten; aber wir glauben nicht daran.

Dies geht schon einmal daraus hervor, dass verschiedene Zellextracte, so die durch Gefrieren der Zellen in physiologischer Kochsalzlösung, weiter die durch Zerreiben der Zellen in frischem und getrocknetem Zustande gewonnenen, grosse Mengen von Nucleohiston enthalten, ohne aber bactericid zu wirken. Speciell die durch Zerreiben der Zellen gewonnenen Extracte wirken nicht im Geringsten, selbst wenn sie mit Essigsäure eine voluminöse Fällung geben, auf die empfindlichen Staphylococcen ein — und dies nicht einmal in einem so einfachen Medium, wie es die als Suspensionsflüssigkeit verwendete physiologische Kochsalzlösung ist.

Dann spricht auch weiter gegen die Bedeutung des Nucleohistons unsere Mittheilung, dass durch Erwärmen der Zellen bessere Extracte gewonnen werden als bei gewöhnlicher Temperatur; nun ist aber das Nucleohiston leichter bei gewöhnlicher Temperatur löslich, wie man sich unschwer überzeugen kann, wenn man durch Gefrieren gewonnene Zellextracte auf 60° erwärmt; hiebei trübt sich die Flüssigkeit und setzt schliesslich einen Bodensatz ab.

Ganz unvereinbar mit der Annahme, dass das Nucleohiston bactericid wirkt, ist aber dann die Thatsache, dass eine Reihe von Organen und Zellen, welche bei ihrer Extraction grosse Mengen dieser Stoffe in Lösung gehen lassen: die Thymusdrüse, die Halslymphdrüsen des Rindes, die Lymphzellen der Kaninchen, nicht die schwächste bactericide Wirkung entfalten können.

Die Arbeiten und Aufsätze anderer Autoren.

Von den Arbeiten der anderen Autoren (s. Literaturverzeichnis) haben wir an dieser Stelle nur wenig zu besprechen. Die Arbeiten von Jacob haben zu wenig exacte und vor allem zu wenig klare Technik, haben auch keine eindeutigen Resultate ergeben, so dass man aus ihnen nur wenig erfährt.

Auch die Mittheilungen der Amerikaner Stokes und Wegefarth können nur geringes Interesse erregen.

Van de Velde hat Untersuchungen mitgetheilt, welche die unsrigen durchaus bestätigten. Er verwendet zum ersten

Male abgetödtete Zellen — während früher die Denys'sche Schule immer nur mit lebenden gearbeitet hatte, was wohl hauptsächlich, soweit sich ihre Untersuchungen auf den Nachweis der bactericiden Stoffe in den Leukocyten erstreckt hatten, die Schuld an den theilweisen Misserfolgen trug. Van de Velde tödtet die Kaninchen-Leukocyten mit destillirtem Wasser (s. o. unsere Unters.) und mit Hundeserum.

Auf den kritischen Theil seiner kleinen Abhandlung gehen wir hier nicht näher ein, so verlockend es auch wäre, die Objectivität desselben näher zu beleuchten; nur eine Bemerkung van de Velde's müssen wir hier entschieden zurückweisen. Er behauptet, die Untersuchungen der Denys'schen Schule hätten schon vor Jahren ergeben, dass die bactericiden Stoffe Secretionsprodukte der Leukocyten sind. Er nimmt dieses Verdienst deshalb in Anspruch, weil von Denys nachgewiesen wurde, dass das Plasma von durch Injection abgetödteter Staphylococcenculturen erzeugten Exsudaten stärker bactericid auf den Staphylococcus wirke als das Blutserum des gleichen Thieres.

Aus einer solchen Beziehung von Plasma und Blutserum Schlüsse wie van de Velde zu ziehen, ist nun ganz unstatthaft.

Einmal wirkt das Exsudatplasma durchaus nicht auf alle Bacterien stärker bactericid als das Blutserum; für manche Arten, wie für den Typhusbacillus und den Choleravibrio ist das Blutserum stets stärker wirksam. Wir haben dies schon im Anhang zu unserer ersten Abhandlung dargethan. Durch den erwähnten Nachweis konnte van de Velde höchstens wahrscheinlich machen, dass die Leukocyten bactericide Stoffe an das Plasma abgeben. Auf welche Weise dies nun erfolge, ob infolge einer Lebensäusserung durch Secretion, oder ob das Freiwerden der bactericiden Stoffe an das Absterben der Zellen gebunden sei, blieb hiedurch völlig unentschieden. Der belgische Forscher hat offenbar nicht bedacht, dass man ein Zugrundegehen der Leukocyten in der Pleurahöhle der Kaninchen keineswegs ausschliessen kann, ja dass ein solches zweifellos erfolgt; Erfahrungen von Hahn (auch vom Verf.) haben ergeben, dass, wenn man länger als 48 Stunden mit der Entnahme des pleuritischen

Exsudats wartet, schlechte Resultate mit den Zellen erzielt werden; ähnlich ist es bei subcutaner Injection von Leukocyten anlockenden Mitteln, wobei wegen der langsamer verlaufenden Reaction ebenfalls durchschnittlich minderwerthige Zellen gewonnen werden. Die Leukocyten bleiben eben, wenn sie einmal ausgewandert sind, nicht lange lebensfähig. So wird man auch annehmen können, dass schon während der ersten Stunden nach der Aleuronat- oder Staphylococcen-Injection — wohl auch infolge dieser — ein Theil der angelockten Zellen zu Grunde geht.

Wenn Denys früher die Vermuthung ausgesprochen hat, dass den Leukocyten deshalb ein Antheil an der bactericiden Wirkung des Serums zufallen müsse, weil sie im Blute zu Grunde gehen und sich darin auflösen, warum sollte dies nicht auch in Exsudaten der Fall sein können?

Hiefür spricht entschieden die Beobachtung Bail's, dass sich in Exsudaten regelmässig eine Substanz gelöst findet, die mit grosser Wahrscheinlichkeit dem Nucleohiston entspricht. Dieses wird wohl am ehesten beim Zugrundegehen der Zellen — ähnlich wie in vitro — in die Flüssigkeit übergehen — oder sollte man etwa annehmen, dass auch das Nucleohiston secernirt werde?!

Einer Auffassung Buchner's, die sich in seinem Aufsatz »Zur Phagocytentheorie« findet, möchten wir an dieser Stelle gerne Erwähnung thun. Buchner sagt, dass Metschnikoff seine Ansicht, dass die bactericiden Stoffe der Leukocyten nur beim Zugrundegehen von denselben abgegeben würden, unseren Versuchen und den Versuchen Bail's gegenüber nicht mehr aufrecht erhalten könne.

Was uns betrifft — und die Bail'schen Resultate sind wohl im gleichen Sinne aufzufassen — so können wir einer solchen Deutung unserer Versuche nicht beipflichten, nachdem wir ja im Gegentheile stets betont haben, dass nur die beim Tode der Zelle erfolgende Abgabe der bactericiden Stoffe bewiesen sei — und zwar durch uns; während die Annahme einer

Secretionsthätigkeit der Leukocyten eine durchaus ungenügend gestützte Hypothese sei (Hahn, van de Velde).

Zum Schlusse unserer kritischen Besprechungen wollen wir noch aus einer Arbeit von Trumpp hervorheben, dass dieser Autor gleichfalls mit uns sich nicht in Uebereinstimmung befindet, wenn er behauptet, die Alexine stammten erwiesenermaassen von den Leukocyten ab und neben den Versuchen von Hahn unsere als beweisend hiefür ansieht.

Wir haben wohl oft genug auf Unterschiede zwischen den Alexinen und den bactericiden Leukocytenstoffen aufmerksam gemacht, um jetzt nicht eigens betonen zu müssen, dass wir den Beweis ihrer Identität ebenso wenig erbracht haben wie irgend ein Anderer.

Fassen wir noch einmal unsere Resultate kurz zusammen, so ergeben sich folgende Schlusssätze:

1. Die bactericiden Stoffe der Leukocyten wirken auf rothe Blutkörperchen fremder Thierspecies nicht ein; sie sind deshalb mit den globuliciden Stoffen des Blutserums nicht zu identificiren. Letztere sind vermuthlich überhaupt nicht in den Leukocyten enthalten.
2. Die bactericiden Stoffe der Leukocyten sind in ihrer Wirkung unabhängig vom Salzgehalte ihres Mediums und bleiben auch bei fast völligem Salzmangel der umgebenden Flüssigkeit wirksam.
3. Die bactericiden Wirkungen in den besprochenen Versuchen von Löwit und Bail sind nicht durch aus den Zellen freigewordene Stoffe bedingt, sondern theils freiem Alkali zuzuschreiben, theils auf Beobachtungsfehler zurückzuführen.
4. Das Nucleohiston (im weiteren Sinne die aus den Zellextracten durch Essigsäure fällbaren Stoffe) übt keine bactericiden Wirkungen aus.

Weiter möchten wir zusammenfassend noch einmal unserer Ansicht Ausdruck geben, dass man trotz einzelner Unterschiede in ihrer Wirksamkeit, in der Labilität etc. gut thun wird, so lange man keine anderen Zellen kennt, welche bactericide Stoffe liefern, die besser mit den Serumalexinen übereinstimmen, die polynucleären Leukocyten auch als Alexinspender anzusehen. Freilich, bewiesen ist dies ebenso wenig wie die hypothetische Secretionsthätigkeit der Leukocyten.

Nachtrag zur Correctur.

Nachdem die vorliegenden Untersuchungen schon beendet waren, erschienen noch einige in den Gegenstand einschlägige Arbeiten, die in aller Kürze besprochen werden sollen. Zunächst eine solche von Bail: »Schutzstoffe gegen die Staphylococceninfection«.

Bail nimmt hier den Standpunkt ein, dass den Leukocyten gegenüber dem Staphylococcus Schutzstoffe zukämen, die von den bactericiden Substanzen zu trennen seien, weil sie sich dem destillirten Wasser, dem Leukocidin und dem Erwärmen gegenüber viel weniger widerstandsfähig erwiesen als letztere. Die Resultate sind zweifellos beachtenswerth; der innige Connex zwischen Staphylococcen und polynucleären Leukocyten im Thierversuche fällt jedem auf, der sich hiemit beschäftigt hat.

Wir glauben aber trotzdem — auch abgesehen davon, dass eine unter den Versuchsthieren Bail's wüthende Seuche nach seinem eigenen Ausspruche die klare Beurtheilung der Resultate trübte —, dass die Annahme einer »antitoxischen« Leukocytensubstanz (so fasst Bail die Schutzstoffe auf) noch als Hypothese zu betrachten ist, da Bail Wirkungen der lebenden Zellen hinsichtlich ihrer hypothetischen Secretionsthätigkeit, hinsichtlich der Phagocytose nicht ausschliessen konnte, indem alle Eingriffe (Erhitzen, destillirtes Wasser, Leukocidin) nicht nur die Schutz-

wirkung aufhoben, sondern auch die Leukocyten abtödten mussten; weiter sollte, wie wir glauben, berücksichtigt werden, dass alle erwähnten Proceduren gleichzeitig Extractionsmethoden vorstellen, und dass hiedurch gegenüber den unveränderten, nicht ausgelaugten Leukocyten beachtenswerthe Unterschiede sich ergeben, indem letztere ganz allmählich ihre bactericiden Stoffe im Thier abgeben können, während die Extracte rasch resorbirt, und deren bactericide Stoffe somit dem Schauplatze der Infection entführt werden.

Hiemit ist gut vereinbar, dass dem Exsudatplasma nach Bail eine antitoxische Eigenschaft fehlt; und nicht besonders dagegen sprechen die — nicht ganz eindeutigen — Versuche Bail's, wonach auch bei örtlich getrennter Injection der Zellen und Staphylococcen sich zuweilen geringfügige Schutzwirkung ergab, besonders wenn man sich dabei an die von Bail ausdrücklich angeführte Thatsache hält, dass die Kaninchen individuell sehr verschieden empfänglich waren für die Staphylococceninfection, und sich somit die Höhe der einfach resp. fünffach tödtlichen Dosis nicht genau normiren liess.

Eine zweite, vor wenig Tagen publicirte Arbeit von C. Däubler: »Ueber die bactericide Kraft der Leukocytenstoffe verschiedener Thierspecies und ihr Verhältnis zu den bactericiden Stoffen des Blutserums« bringt nichts wesentlich Neues. Unsere, schon vor 2 Jahren erhobenen Befunde (relative Hitzebeständigkeit der Leukocytenstoffe, Vernichtung derselben bei 80°, Abhängigkeit der bactericiden Wirkung von der Temperatur, von der Vertheilung der Zellen, Zugrundegehen der Bacterien in physiologischer Kochsalzlösung etc.) werden sämmtlich bestätigt.

Die eigentliche Aufgabe, die sich Däubler gestellt, die bactericide Leistung der Leukocyten einzelner Thierspecies eingehender als bisher und planmässig unter Berücksichtigung der verschiedenen begünstigenden oder abschwächenden Umstände zu studiren und hiedurch einen Maassstab für die Beurtheilung der Immunität zu liefern, — erscheint uns ihrer Lösung nicht im Geringsten näher gerückt, indem nicht nur die Aenderungen in der Methodik keine Verbesserung bedeuten, sondern auch die

Anschauungen und Kenntnisse des Autors über natürliche und künstliche Immunität durchaus verworrene sind und keineswegs vorurtheilsfreier Beurtheilung der Fachliteratur entspringen.

Wenn Däubler sagt: »R. Pfeifer und Marx fanden bei Immunisirung von Kaninchen mit abgetödteten Choleraculturen keine Erhöhung der bactericiden Kraft von Leukocyten des Blutes und Pleuraexsudaten derselben Thiere, die Ansicht(!) Schattenfroh's, dass diese (!) bactericiden Schutzstoffe sich in den Leukocyten ablagerten, — — — wird dadurch hinfällig«, so ist dies für jeden Eingeweihten deutlich genug und bedarf keines weiteren Commentars.

Däubler hält die bactericiden Stoffe der Leukocyten und diejenigen des Blutserums für nicht identisch. —

Noch ein zusammenfassendes Referat ist zu erwähnen, das aus dem Pasteur'schen Institute stammt: »Du pouvoir bactéricide des leucocytes« von Besredka.

Man erfährt einmal hieraus, dass Metschnikoff nun wieder die »verdauende« Kraft der Leukocyten gegenüber der »bactericiden« in den Vordergrund stellt und letztere höchstens als eine Theilerscheinung ersterer auffassen will. Neuere Erfahrungen über das Verhalten der Leukocyten gegenüber Giften sind hiefür maassgebend. Wir registriren dies einfach, ohne die Frage aufzuwerfen, ob dies für die Immunität einen wesentlichen Unterschied bedeutet.

Ohne des Näheren auf das sehr lesenswerthe Referat einzugehen, heben wir hervor, dass wir uns mit der Auffassung Besredka's, die er darin zum Ausdrucke bringt, nicht durchaus einverstanden erklären können. So erwähnt er zum Schlusse, dass bereits viererlei bactericide Stoffe — entsprechend der Anzahl der Autoren — aus den Leukocyten extrahirt seien, und gibt der Befürchtung Ausdruck, dass bei jedem neuen ähnlichen Versuche eine weitere Vermehrung derselben zu gewärtigen sei. Abgesehen davon, dass diese Zahl um zwei zu hoch gegriffen ist (die Alexine resp. das Vermögen des Vollexsudats, bei 55° inactivirt zu werden, sowie die Löwit'schen Extracte gehören nicht hieher), ergibt sich für uns weiter die Nothwendigkeit zu

constatiren, dass laut unseren in dieser Arbeit niedergelegten Untersuchungen gegenwärtig kein Grund vorliegt, die wirksamen Stoffe der einzelnen Extracte für verschieden zu halten.

Wir können Besredka auch nicht zustimmen, wenn er die Extractionsmethoden, wie sie üblich sind, für nicht geeignet zum Studium der bactericiden Stoffe hält, weil sie der empfindlichen Organisation der Leukocyten zu wenig Rechnung trügen. Für uns liegt kein Grund vor, bei der Gewinnung der bactericiden Substanzen anders vorzugehen als etwa bei der Gewinnung des Trypsins oder der »Zymase« verfahren wird, wobei noch viel eingreifendere Manipulationen zur Anwendung kommen.

Auch die Kritik Besredka's über unser Isolirverfahren halten wir nicht für stichhaltig.

In Bezug auf die Einzelheiten muss auf die Originalien verwiesen werden.

Literaturverzeichnis.

Buchner, Ueber die Phagocythentheorie. Münchner med. Wochenschrift, 1897.

Trumpp, Das Phänomen der Agglutination und seine Beziehungen zur Immunität. Arch. f. Hygiene, Bd. 33

Van de Velde, Ueber den gegenwärtigen Stand der Frage nach den Beziehungen zwischen den bactericiden Eigenschaften des Serums und der Leukocyten. Centralbl. f. Bacteriol., I., Bd 23.

Jacob, Schutzkraft der Leukocyten. Zeitschr. f. klin. Medicin, Bd. 32.

E. Stokes and A Wegefarth. The presence in the blood u. s. w., from The J. Hopkins Hospital Bulletin Nr. 81, December 1897.

Löwit, Ueber bactericide Leukocytenstoffe. Centralblatt f. Bacteriologie, I. — Ueber die Beziehung der Leukocyten zur bact. Wirkung etc. — Zieglers Beiträge, 22. Bd.

Bail, Ueber leukocide Substanzen in den Stoffwechselproducten des Staphylococcus pyogenes aureus. I. und II., Arch. f. Hygiene, Bd. 30 und 32.

Schattenfroh, Ueber die bacterienfeindlichen Eigenschaften der Leukocyten. Arch. f. Hygiene, Bd. 31.

Bail, Ueber die Inactivirbarkeit leukocytenreicher Exsudate. Berliner klin. Wochenschr., 1898, 22.

Schattenfroh, Neuere Erfahrungen über die bacterienfeindlichen Stoffe der Leukocyten. Münchner med. Wochenschr. 1898, 12. — Ueber hitzebeständige bactericide Leukocytenstoffe. Münchner med. Wochenschr. 1898, 30.

Bail, Berliner klin. Wochenschrift, 1898, 42.

Besredka, Annal. de l'Inst. Pasteur, 1898, Septemberheft.

C. Däubler, Centralblatt für Bacteriologie, 1899, Februar.

Ueber die Ausscheidung von Mikroorganismen durch die thätige Milchdrüse.

Von

Dr. **K. Basch** und Dr. **F. Weleminsky**[1]).

(Aus Prof. Hueppe's hygienischem Institut an der deutschen Universität in Prag.)

Ueber die Frage, ob Infectionserreger durch die lebende und thätige Drüse mit der Milch ausgeschieden werden, waren die Anschauungen bis zum Erscheinen der Arbeit von Fritz Basenau[2]) sehr getheilt, ja man kann sagen, dass verlässliche und an Zahl genügende experimentelle Grundlagen zur Beurtheilung überhaupt fehlten. In bejahendem Sinne (für den Uebergang aus dem Blut in die Milch) hatten die Fragen beantwortet[3]):

Für den Staphylococcus pyogenes:

1. Escherich bei Sepsis puerperalis hominis und ferner Rhagaden der Brustwarze.
2. Longard bei Sepsis puerperalis hominis.
3. Karlinski bei Sepsis puerperalis hominis.
4. v. Eiselsberg bei Panaritium hominis.

1) Siehe die vorläufige Mittheilung der Berliner klinischen Wochenschr., 1897, Nr. 45.

2) Fritz Basenau, Ueber die Ausscheidung von Bacterien durch die thätige Milchdrüse und über die sog. bactericiden Eigenschaften der Milch. Archiv für Hygiene, 1895, Bd. XXIII, S. 44.

3) Escherich, Longard, Karlinski, v. Eiselsberg, Foà und Bordone-Uffreduzzi, Bozzolo, Gaffky und Pak, Konbassoff, Abbot, Klein cit. bei Basenau, Arch. f. Hyg., 1895, Bd. XXIII, S. 44

Für Diplococcus Fränkel-Weichselbaum:

5. Foà und Bordone-Uffreduzzi bei Kaninchen.
6. Bozzolo bei Pneumonia hominis.
7. Aymard[1]) bei Kaninchen.

Für andere Mikroorganismen:

8. Chambrelent[2]) für den Bac. der Hühnercholera bei Kaninchen.
9. Gaffky und Paak für die Bacillen der Fleischvergiftung beim Meerschweinchen (allerdings post mortem).
10. Chambrelent und Moussons[3]) für Milzbrandbacillen bei Meerschweinchen (?).
11. Konbassoff für Milzbrandbacillen, Streptococcen und Tuberkelbacillen bei Meerschweinchen (?).
12. Bollinger und seine Schüler, ferner Baumgarten, Bang etc. für den Tuberkelbacillus bei Kühen.

Dazu kommt noch wahrscheinlich die Malaria[4]), und die sicher durch die Milch übertragbare Maul- und Klauenseuche. Zu dieser bemerkt Basenau, wie uns scheint mit vollem Recht, dass bei der enormen Absonderung von Geifer und bei der Häufigkeit von Blasen am Euter selbst die Milch nur zu leicht von aussen inficirt werden könne; man brauche daher nicht zu folgern, dass die von Schottelius und Behla beschriebenen und als Krankheits-Erreger aufgefassten Kleinlebewesen erst vom Blute her die Drüse passiren. Dass diese Mikroorganismen heute nicht mehr als die Erreger der Maul- und Klauenseuche betrachtet werden können, ändert nach unserm Dafürhalten nichts an der Richtigkeit dieser Schlussfolgerung.

Bezüglich der Rindertuberkulose meint Basenau, dass in den wenigen Fällen, in denen bei nicht afficirtem Euter Tuberkelbacillen in der Milch nachgewiesen wurden, mehr oder minder

1) Aymard P., Recherches sur le passage des micro organismes (et en particulier du pneumocoque) de la mère à l'enfant par le lait. Dissert., Paris 1891, H. Jouve.

2) Chambrelent, cit. nach Aymard, S. 14.

3) Chambrelent und Moussons, cit. nach Aymard, S. 12.

4) Bondin, Luc, Ebrard, Leroux, Franck, cit. nach Aymard, S. 17.

starke Alterationen der Gefässwände infolge von Ernährungsstörungen stattgefunden haben. Dem gegenüber möchten wir darauf hinweisen, wie leicht bei einem so grossen Organ, wie es das Euter einer Kuh ist, ein oder der andere kleine Herd der allein gebräuchlichen und durchführbaren makroskopischen Untersuchung entgehen kann. So spricht sich auch Fiorentini[1]) in einer neueren Arbeit dahin aus, dass der Uebergang von Tuberkelbacillen in die Milch erst dann stattfindet, wenn im Euter selbst der tuberculöse Process begonnen hat.

Wenn wir also auch von der Maul- und Klauenseuche und der Tuberculose absehen, so verbleiben doch noch eine stattliche Reihe von positiven Befunden. Diesen gegenüber stehen einige unbestimmte: Klein[2]) fand einmal Bacillen in der Milch einer mit Diphtherie inficirten Kuh, in einem zweiten Falle dagegen nicht. Ob das Wuthgift in die Milch übergeht, ist nach Stühlen[3]) noch zweifelhaft.

Von negativen Befunden fand Basenau eigentlich nur einen in der Literatur verzeichnet: den von Abbott[4]), der ebenfalls Diphtheriebacillen in der Milch von inficirten Kühen nicht nachweisen konnte. Wir können noch zwei Fälle von Wyssokowitsch[5]) hinzufügen, der Mikrococcus Tetragenus und Bac. cuniculicida, trotzdem sie reichlich im Blute der inficirten Meerschweinchen sich befanden, in der Milch der Thiere vermisste.

Endlich konnte Malvoz[6]), als er die Durchgängigkeit der Placenta für Mikroorganismen unter Leitung von Herrn Professor

---

1) Fiorentini, Ueber Eutertuberculose und Infection der Milch. La sperimentale, 1895, Th. 8. Cit. nach Hyg. Rundschau, Bd. VI, 1896, S. 125.

2) Siehe Anmerkung 3 auf S. 205.

3) Stühlen, Ueber die Verbreitung von Krankheiten durch Milch und und deren Producte, sowie über die Maassregeln gegen die Verbreitung vom sanitätspolizeilichen Standpunkt. Thiermedicinische Vorträge, Bd. III, Heft 7. Cit. nach Hyg. Rundschau, Bd. VI, 1896, S. 73.

4) Siehe Anmerkung 3 auf S. 205.

5) Wyssokowitsch, Ueber die Schicksale der ins Blut injicirten Mikroorganismen im Körper der Warmblüter. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. I, 1886, S. 3.

6) E. Malvoz, Sur la Transmission intraplacentaire des microorganismes. Annales de l'institut Pasteur, Bd. II, 1888, S. 121.

Hueppe prüfte, wie uns von demselben privatim mitgetheilt wurde, den im Blute von Kaninchen kreisenden Bac. murisepticus in der Milch, die er gelegentlich ebenfalls untersuchte, nicht wieder auffinden.

In systematischer Weise hat, wie bereits oben erwähnt, vor allem Basenau[1]) das Verhalten der Milchdrüse, allerdings nur gegenüber einem Bacillus, dem Bac. bovis morbificans studirt.

Er hatte diesen aus dem Fleische einer an Sepsis puerperalis erkrankten Kuh gezüchtet. Als Versuchsmaterial dienten ihm 6 Meerschweinchen, eine Ziege und eine Kuh; von diesen Versuchsthieren erkrankte die Ziege nur ganz leicht, ein Meerschweinchen überhaupt nicht, und die Milch blieb bei beiden keimfrei. Die übrigen 5 Meerschweinchen dagegen, sowie die Kuh, gingen nach 13 Stunden bis 2 Tagen zu Grunde; in der Milch war der Bac. bovis morbificans regelmässig in grossen Mengen zu finden. Daraus zog Basenau den Schluss, dass »die Milchdrüse zwar kein Organ sei, dessen sich der Körper bediene, um im Blute kreisende Keime zu eliminiren, dass jedoch bei schwerer oder lange dauernder Erkrankung, wahrscheinlich infolge von Degeneration der Gefässwände, die Mikroorganismen in die Milch übergehen können.« Es wurde leider das Blut in in vivo nicht untersucht, so dass es unbestimmt bleibt, ob und wie lange in den zwei negativen Fällen die Keime im Blute kreisten.

Unsere Versuche erstrecken sich, abgesehen von den Controlthieren, auf 36 säugende Thiere; wir verwendeten Meerschweinchen, weil von dieser Thiergattung noch am leichtesten säugende Exemplare zu erhalten sind. Ferner haben sie, im Gegensatz zu Hündinnen und Kaninchen, nur 2 Milchdrüsen, deren Zitzen lang und schmal nach unten gerichtet sind, so dass von aussen Mikroorganismen nur schwer in die Ausführungsgänge einwandern können. Thatsächlich war die Milch, die wir vor den Versuchen probeweise entnahmen, stets steril. Die Umgebung der Brustwarzen wurde in weitem Umfange rasiert, dann mit

1) Siehe Anmerkung 2 auf S. 205.

Seife, Wasser, Sublimat (1‰), Alkohol und Aether desinficirt. Genau so wurden die Ohrläppchen behandelt, denen wir durch Einschnitte mit geglühten Scheeren Blut entnahmen.

Wir arbeiteten zuerst mit nichtpathogenen Keimen, und zwar dem Bacillus cyanogenes lactis und dem Bac. prodigiosus. Wir wählten diese beiden, da sie bei Körpertemperatur gut fortkommen, ferner — schon infolge der Farbe ihrer Colonien — sehr leicht und mit Sicherheit nachzuweisen, endlich auch als Verunreinigungen nicht wie z. B. der Heubacillus zu fürchten sind. —

Da sie — sowohl subcutan als auch intraperitoneal beigebracht — nicht ins Blut übergehen, so injicirten wir eine Aufschwemmung von einer Oese einen Tag alter Agarcultur in 1 ccm 0,6 proc. steriler Kochsalzlösung in die Vena jugularis je eines säugenden Meerschweinchens. Sowohl der Bac. prodigiosus wie der Bac. cyanogenes lactis verschwanden aber, wie zu erwarten war, sehr schnell (nach 1—2 Stunden) wieder aus dem Blutkreislauf. Die Milch war bei beiden Thieren steril geblieben. Ebenso ging es mit der Injection grösserer Mengen (zwei Oesen einer Agarcultur). —

Wir gingen nun zu den pathogenen Mikroorganismen über, und wählten vor allem den Bac. anthracis, der mannigfache Vortheile bietet:

Er ist äusserst verlässlich in seiner Virulenz, lässt sich auf unseren künstlichen Nährböden, auf denen er ja üppig gedeiht, sehr leicht erkennen, und auch seine Vertheilung im Gewebe lässt sich bei seiner Grösse und Färbbarkeit nach Gram gut studieren.

Er erzeugt ferner keine Zellnekrosen mit nachfolgender Eiterung, und — was sich nachher als äusserst wichtig erwies — keine Hämorrhagien — wenigstens nicht in der Milchdrüse und beim Meerschweinchen; in dieser Beziehung kann er geradezu als das Muster eines reinen Septikämieerregers bezeichnet werden.

Wir haben zusammen sechs säugende Meerschweinchen mit Anthrax geimpft; da das Resultat ebenso wie die Versuchs-

anordnung sich immer gleich blieb, wollen wir blos ein Versuchsprotokoll wiedergeben:

Thier Nr. VII.

Meerschweinchen mittlerer Grösse, 530 g schwer, hat am 20. XI. geworfen, Milchsecretion reichlich.

3. XII. Milch und Blut auf Agar geimpft; beides steril.

5. XII. 5h Nachm. Es erhält eine Platinöse 1 Tag alter Agarcultur von Anthrax subcutan unter die Rückenhaut.
8h Abends. Blut und Milch steril.

6. XII. 9h Vorm. Blut und Milch steril.
12h Vorm. Blut und Milch steril.
6h Abends. Blut gibt einige Anthraxcolonien, Milch steril.

7. XII. 9h Vorm. Blut gibt massenhafte Anthraxcolonien, Milch steril. Das Thier ist schwer krank.
12h Vorm. Im Blut massenhaft Anthrax, Milch steril.
3h Nachm. stirbt das Thier.

Unmittelbar post mortem wird aus beiden Drüsen Milch entnommen, und auf Agar verimpft; der Agar bleibt steril.

Die Section zeigt das typische Anthraxödem; die Milz hyperämisch, stark vergrössert, Nebennieren ebenfalls hyperämisch, Milchdrüse blass.

Aus Herzblut, Leber, Milz und Niere gehen zahllose Anthraxcolonien auf.

Wir haben Anthrax stets subcutan beigebracht, weil uns dies der natürlichen Injection näher zu kommen schien, als eine Injection in die Vene oder den Peritonealraum, und er auf diesem Wege ebenso sicher in den Blutkreislauf geräth.

Vom Rücken wählten wir den oberen Theil, um möglichst entfernt von den Milchdrüsen selbst zu sein.

Bei einem Thier mit besonders reichlicher Milchsecretion wurde zwei Stunden ante mortem — der wahrscheinliche Zeitpunkt des Todes wurde durch ein ungefähr gleich schweres Controlthier, welches einige Stunden vor dem säugenden mit derselben Cultur geimpft worden war, festgestellt — über $1/_2$ ccm Milch abgespritzt, nachdem bereits 20 Stunden lang die Milzbrandbacillen im Blute gekreist hatten. Die Milch wurde einem jungen Thiere subcutan injicirt; das Thier blieb gesund, was uns als Beweis dafür erscheint, dass im Gegensatz zur Ansicht von Basenau und den Angaben von Chambrelent und Moussons, sowie Konbassoff auch bei schwerer, tödtlicher Erkrankung die Infectionserreger nicht aus dem Blut in die Milch überzugehen brauchen.

Mit Ausnahme eines Thieres, das sich wahrscheinlich an der blutenden Ohrwunde des Mutterthieres inficirte, blieben die säugenden Jungen stets gesund. Wenn wir daraus allein folgern würden, dass kein Anthrax in der Milch war, so könnte dem entgegengehalten werden, dass Anthraxinfection bei Meerschweinchen durch Fütterung nicht immer erzielt wird oder dass das schwererkrankte Mutterthier nicht mehr die Jungen saugen lässt (siehe Versuchsthier Nr. XXXV). Dagegen lässt sich dieser Einwand gegen die Ueberimpfung der Milch auf die Nährböden oder gegen die subcutane Injection derselben nicht erheben.

Das mikroskopische Bild der Milchdrüse — in Celloidinschnitten nach Gram gefärbt, mit Cochenille-Alaun vorgefärbt, — war folgendes: in den Randtheilen der Drüse und im perimammären Gewebe fanden wir ganze Strassen von Bacillen dicht aufgestaut; in den centralen Theilen konnten wir aber nur bei genauerem Zusehen innerhalb der Capillaren spärliche Bacillen entdecken, so dass förmlich der Eindruck entstand, als ob die Drüse wie ein Filter wirken würde, das die Bacterien in ihren äusseren Theilen zurückhält und ihnen den Einlass in die centralen Theile versperrt.

Wir haben nun nachgesehen, ob auch andere Drüsen von ähnlicher histologischer Beschaffenheit diese Erscheinung gegenüber den Bacillen darbieten, und wir untersuchten nach dieser Richtung die Glandula submaxillaris und die Glandula sublingualis. Auch diese Drüsen waren nur spärlich von Stäbchen durchsetzt. Wenn wir hingegen die regionären Lymphdrüsen am Halse untersuchten, fanden wir daselbst die Bacillen viel zahlreicher, und das Bild von der Vertheilung der Bacillen war mit einem Schlage ein ganz anderes, wenn wir die grossen drüsigen Organe des Unterleibs betrachteten: Die Leber und die Niere. Dort fanden sich die Capillaren in typischer Weise mit Anthraxbacillen erfüllt, die Bacillen gleichmässig über das ganze Organ verbreitet. Der Unterschied war besonders auffallend, wenn wir die aus der Milchdrüse gewonnenen Schnitte mit den Schnitten aus Leber und Niere verglichen.

Wir vermögen nicht zu entscheiden, ob diese ungleichmässige Vertheilung der Bacillen mehr mit der Art der Blutvertheilung oder mit der besonderen histologischen Beschaffenheit der Drüsen zusammenhängt; möglicher Weise wirken beide Factoren mit.

So haben auch Biedl und Kraus[1]) gefunden, dass Bac. prodigiosus, Bac. pyocyaneus und Staphylococcus pyog. aur. wohl durch Leber und Niere, nicht aber durch Pankreas und Mundspeicheldrüsen »physiologischer Weise« ausgeschieden werden. Maassgebend sind dabei nach ihrer Anschauung der anatomische Bau (niedriges Plattenepithel bei Leber und Niere, hohes Cylinderepithel bei den Speicheldrüsen), sowie Secretionsverhältnisse (constante Blutfülle und Secretion bei Leber und Niere, temporäre bei den Speicheldrüsen). In alledem schliesst sich die Milchdrüse den Speicheldrüsen an. Möglicher Weise könnte aber auch die chemische Beschaffenheit von Einfluss sein, und wäre in dieser Beziehung an den hohen Nukleïnsäuregehalt der Milchdrüsenepithelien zu denken, dem ja eine starke bactericide Kraft zukommt.[2]) Doch wollen wir bereits jetzt darauf hinweisen, dass nach unseren Versuchen die Mikroorganismen je nach den verschiedenen Wirkungen, die sie hervorbringen, sich der Drüse gegenüber verschieden verhalten. Wir werden dies sofort aus der zweiten Versuchsreihe, die wir mit dem Bac. pyocyaneus anstellten, erkennen.

Der Pyocyaneus ist in seiner Wirkung durchaus vom Anthrax verschieden bei ihm ist es neben der rein bacteriellen hauptsächlich die Giftwirkung, die in den Vordergrund tritt, wie es u. A. Wassermann[3]) ausführlich beschrieben hat, Für uns war vor allem der Umstand wichtig, dass er regelmässig bald

---

1) Biedl und Kraus, Weitere Beiträge über die Ausscheidung von Mikroorganismen durch drüsige Organe. Centralblatt für innere Medicin, 1896, Nr. 29, S. 738.

2) K. Basch, Entstehung des Caseïns in der Milchdrüse. Jahrbuch für Kinderheilkunde, 1898, S. 90.

3) Wassermann, Experiment. Beiträge zur Serumtherapie. Deutsche medic. Wochenschrift, 1897, S. 262.

geringere, bald stärkere Hämorrhagien, besonders in der Milchdrüse hervorrief. Unser Pyocyaneusstamm erwies sich bei subcutaner und intraperitonealer Injection in gewissem Sinne nicht ganz verlässlich: Die betreffenden Controlthiere, an denen wir ihn erprobten, gingen nämlich oft ein, ohne dass wir — worauf es uns ja ankam — im Blute Bacillen hätten finden können.

Wir wählten daher intravenöse Injectionen, und zwar an der Vena jugularis, resp. subclavia, die einerseits stets ein hinreichendes Kaliber bietet und andererseits weit genug von den Milchdrüsen entfernt ist, dass man eine per continuitatem erfolgende Infection des perimammären Zellgewebes, wie sie bei der Cruralvene zum Beispiel leicht passiren könnte, nicht zu fürchten braucht.

Zusammen waren es sieben säugende Thiere, an denen wir unsere Versuche mit Pyocyaneus anstellten; da auch hier Anordnung wie Resultat ungefähr gleich blieben, wollen wir nur eins von den Versuchsprotokollen anführen:

Thier Nr. XII.

Meerschweinchen von 640 g, hat am 8. VII. geworfen, Milchsecretion sehr reichlich.

12. VII. 11h Vorm. erhält es 1 1/2 ccm einer 1 Tag alten Bouilloncultur von Pyocyaneus in die rechte Vena subclavia. Um Embolien zu vermeiden, wird die Cultur vorher durch (steriles) Filtrirpapier filtrirt.

12 h. Aus Blut zahlreiche Colonien von Pyocyaneus, die auffallend wenig Farbstoff zeigen. Milch aus beiden Drüsen steril.

4 h. Aus Blut sehr reichliche Colonien von Pyocyaneus, gleichfalls nur schwach grünlich. Aus der Milch der rechten Seite (2 Platinösen) entwickeln sich 3 Colonien von Pyocyaneus mit mässig viel Pigment, aus der der linken (gleichfalls 2 Oesen) 2 Colonien von gleichem Pigment.

8 h. Aus Blut sehr zahlreiche Colonien von Pyocyaneus, die fast gar kein Pigment zeigen. Aus der Milch der rechten Seite massenhaft Colonien mit intensivem Farbstoff, ebenso linkerseits.

13. VII. 8h Früh stirbt das Thier.

Die post mortal entnommene Milch zeigt rechter- wie linkerseits zahllose tiefgrüne Colonien.

Das perimammäre Gewebe dunkelroth, in den Milchdrüsen zahlreiche Hämorrhagien; im Peritonealraum seröses Exsudat, Hämorrhagien in den Nebennieren, Hyperämie des Peritoneums und der Pleura. Die Milz etwas vergrössert.

Aus Exsudat, Leber, Milz, Niere und Herzblut entwickeln sich zahllose Colonien von ziemlich starker Pigmententwickelung.

Interessant war bei allen Fällen die Abnahme der Pigmentbildungsfähigkeit, die der Pyocyaneus beim Kreisen im Blute erlitt, ebenso wie die sofortige Wiedergewinnung, ja Erhöhung dieser Fähigkeit, sowie er in die Milch gelangte. Dabei konnten wir beobachten, wie die Milchsecretion abnahm, die Milch oft dicker, fadenziehend wurde, und einen gelblichen Farbenton annahm. Lebten die Thiere etwas länger (das Minimum war 10, das Maximum 48 Stunden), so wurde die Secretion oft so spärlich, dass wir mit Mühe einen Tropfen Milch herauspressen konnten. Sonst wurden stets je 2 bis 3 Platinösen auf Agar und in Bouillon überimpft. Wir wollen an dieser Stelle noch erwähnen, dass die Milchentnahme resp. die damit verbundenen Manipulationen keine ganz indifferenten Maassnahmen bei unseren schwer erkrankten Thieren zu sein schienen. Nicht selten geschah es, insbesondere gegen das Ende der Krankheit zu, dass uns die Thiere unter den Händen starben, obgleich sie vorsichtshalber nicht gefesselt waren, sondern nur vom Assistenten gehalten wurden. Um die Toxinwirkung möglichst zu vermeiden, nahmen wir stets nur 1 Tag alte Culturen; statt Bouillonculturen wurden auch einigemal Aufschwemmungen von $^1/_2$ bis 2 Oesen einer 1 Tag alten Agarcultur in 0,6proc. steriler Kochsalzlösung verwendet. Das Resultat in Bezug auf Krankheitsdauer, Blut-, Milch- und Sectionsbefund war bei intravenöser Application immer ungefähr das gleiche: stets konnten wir den Pyocyaneus 5 bis 8 Stunden nach der Injection in der Milch nachweisen, und bei der Section deutliche Hämorrhagien in der Milchdrüse sehen. Nur in zwei Fällen war das Bild ein anderes: in dem einen wurde 1 ccm einer 4 Wochen alten Pyocyaneusbouillon intravenös injicirt; es traten sofort Intoxicationserscheinungen auf und nach 4 Stunden ging das Thier zu Grunde. Im Blut waren (in vivo) natürlich sehr zahlreiche, in der Milch dagegen keine Bacillen; bei der Section zeigte die Milchdrüse keine Hämorrhagien. Ein anderes Thier erhielt eine Agarcultur des Pyocyaneus subcutan: nach 4 Wochen ging es unter Erscheinungen

eines fortschreitenden Marasmus ein. Weder im Blut noch in der Milch waren Bacillen zu finden; die Milchdrüse zeigte keine Hämorrhagien.

Auf die Hämorrhagien nun möchten wir besonderes Gewicht legen; wir haben sie immer gefunden, — wenn auch manchmal in geringer Ausdehnung — wenn Bacterien in der Milch auftraten, und wir glauben, dass sie sich auch in den Fällen von Aymard[1]) bei mikroskopischer Untersuchung hätten finden lassen. In den anderen Fällen haben wir sie vermisst, auch wenn die Keime noch so massenhaft im Blute kreisten. Wir haben uns demnach die Anschauung gebildet, dass die Hämorrhagien das Wichtigste und Ausschlaggebende bei der Frage der Durchgängigkeit der Milchdrüse sind: durch sie werden nicht nur die Keime aus den Gefässen in die Gewebe verschleppt, sondern es wird auch die schützende Decke der Epithelien zerstört.

Wir würden demnach zu erwarten haben, dass solche pathogene Keime, die keine Hämorrhagien verursachen, bezw. nicht gerade im Gewebe der Milchdrüse Zellnekrosen und Eiterungsherde hervorrufen, auch nicht in der Milch erscheinen. Um dies zu erweisen, haben wir noch weitere vier Mikroorganismen geprüft, darunter den Bac. bovis morbificans, von dem schon nach den Sectionsprotokollen bei Basenau vorauszusetzen war, dass er Hämorrhagien setzt; wir erhielten ihn durch die Freundlichkeit von Herrn Professor Forster in Strassburg. Weiter prüften wir die Bacillen der Diphtherie, der Cholera und des Typhus, von denen sich zeigte, dass sie in den Milchdrüsen der Meerschweinchen keine Hämorrhagien hervorrufen.

Endlich musste es, wenn unsere Anschauung richtig war, gelingen, falls durch Mischinfection mit einem Hämorrhagien erregenden Pilz Blutungen in der Milchdrüse erzeugt waren, andere Bacterien, beispielsweise den Anthrax, aus der Blutbahn in die Milch gelangen zu sehen.

Wir geben zunächst die Versuchsprotokolle über Typhus, Diphtherie, Cholera, Bovis morbificans.

---

1) Aymard P. siehe S. 206, Anmerkung 1.

Typhus.

Thier Nr. XVI.

Meerschweinchen von 570 g, hat am 18. VII. geworfen; Milchsecretion spärlich.

23. VII. 12 h. 1 1/2 ccm einer 1 Tag alten Bouilloncultur von Typhus werden in die Vena jugularis injicirt.
12h 10'. Aus dem Blut gehen Colonien von Typhus auf, Milch steril.
4 h. Aus Blut Colonien von Typhus, Milch steril.
7 h. Desgleichen.
24. VII. 8h Früh. Desgleichen.
12 h. Desgleichen.
7 h. Desgleichen.
25. VII. 8 h. Desgleichen.
12 h. Desgleichen.
7 h. Desgleichen.
26. VII. Blut steril, Milch steril.
27. VII. Desgleichen.
28. VII. Desgleichen.

Blut und Milch bleiben bis zum 10. VIII. steril; da die Milchsecretion aufhört und das Thier keinerlei Krankheitssymptome zeigt, so wird es getödtet. Die Milz ist vergrössert, sonst nichts Abnormes zu bemerken; aus Milz, Leber, Niere, Herzblut gehen spärliche Typhuscolonien auf. Das Junge bleibt gesund.

Die angestellten Thierversuche unterscheiden sich insofern vom gewöhnlichen Bilde der Typhusinfection beim Menschen, als es hier nur selten[1]) zu einer septikämischen Erkrankung kommt. Aber auch in diesem Falle würden die Typhusbacillen nicht in die Milch übergehen, sofern keine Hämorrhagien in die Drüse gesetzt werden.

Eine dem menschlichen Typhus analoge Infection durch Verfütterung von Typhusbacillen lässt sich bei ganz jungen Thieren erzielen. Es sprach also auch das Gesundbleiben des jungen Thieres für die Sterilität der Milch.

---

1) Chiari H., Ueber das Vorkommen von Typhusbacillen in der Gallenblase bei Typhus abdominalis. Zeitschr. f. Heilkunde, Bd. XV, 2 u. 3, 1894, S. 199. — R. Stern, Klinisch-bacteriologische Beiträge für Pathologie und Therapie des Abdominaltyphus. Sammlung klinischer Vorträge, N. F., S. 138. — W. Kühnau, Ueber die Resultate und die Leistungsfähigkeit der bacteriologischen Blutuntersuchung im Dienste der klinischen Diagnostik. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXV, 1897, S. 502.

Diphtherie.

Thier Nr. XVIII.

Meerschweinchen von 610 g, hat am 25. VII. geworfen, mässig reichliche Milchsecretion.

3. VIII. 1 h. Eine Aufschwemmung von Diphtheriebacillen (1 Oese einer 1 Tag alten, auf Löffler'schem Serum gezüchteten, aus Höchst a. M. stammenden Cultur) in steriler 0,6 proc. Kochsalzlösung wird in die Vena jugularis communis injicirt.
1h 10'. Im Blut Diphtheriebacillen, Milch steril.
4 h. Blut steril, Milch steril. (Löffler'sches Serum.)
8 h. Blut steril, Milch steril.

4. VIII. 8 h. Desgleichen.
12 h. Desgleichen.
4 h. Desgleichen.
8h Abends. Desgleichen.

5. VIII. 8 h. Blut steril, Milch steril.
12 h. Desgleichen.
4 h. Desgleichen.
8 h Abends. Desgleichen.

6. VIII. 8 h. Blut steril, Milch steril. Das Thier zeigt deutliche Krankheitssymptome.
12 h. Blut steril, Milch steril.
4 h. Desgleichen.
8 h. Blut steril, Milch steril. Das Thier schwer krank.

7. VIII. In der Nacht stirbt das Thier.

Die (postmortal entnommene) Milch steril. Hämorrhagisches Oedem der Haut, salziges Oedem des Unterhautzellgewebes vorne vom Hals bis über den Nabel reichend; in den Präparaten aus den infiltrirten Theilen keine Diphtheriebacillen zu sehen. Lunge stellenweise hyperämisch, Milz, Leber, Niere nicht verändert, die Nebennieren hämorrhagisch zerstört. Geringer seröser Erguss in der Peritonealhöhle, sehr starker im Pleuraraum. Die Milchdrüse blass. Weder aus den Organen noch aus dem Herzblut lassen sich Diphtheriebacillen züchten. — Die Jungen bleiben gesund.

Interessant war hier, wie auch bei zwei Controlthieren und einem weiteren ganz gleich reagirenden säugenden Thier, die relativ lange Lebensdauer und das plötzliche, unvermittelte Erkranken der intravenös inficirten Thiere gegenüber den subcutan inficirten. Die ersteren starben nicht, wie man hätte erwarten können, früher, sondern 1—2 Tage später als die letzteren. Die Eprouvetten blieben, wie alle steril erscheinenden, sieben Tage im Brütschrank.

Cholera[1]).

Thier Nr. XIX.

Meerschweinchen von 530 g, hat am 24. VIII. geworfen, Milchsecretion reichlich.

31. VIII. 10h erhält es 1 ccm 1 Tag alter Bouilloncultur von Cholera (Fall Elvers) in die Vena jugularis.
10h 15'. Blut und Milch steril. (Bouillon).
2 h. Blut und Milch steril.
6 h. Desgleichen.

1. IX. 10 h. Aus Blut typische Cholera, Milch steril.
2 h. Desgleichen.
6 h. Desgleichen.

2. IX. 10 h. Aus Blut typische Cholera, Milch steril.
2 h. Desgleichen.
6 h. Desgleichen.

3. IX. 8½ h Früh stirbt das Thier.

Die post mortem (9 h) entnommene Milch steril. Vom Halse an über die ganze Bauchseite das Unterhautzellgewebe gelatinös infiltrirt, das Peritoneum injicirt, geringes Exsudat im Peritonealraum, an den Organen keine wesentlichen Veränderungen; die Milchdrüsen blass. Aus Peritonealexsudat, Leber, Milz, Niere und Herzblut gehen typische (stark leuchtende) Culturen von Bac. Elvers auf. Das Junge bleibt gesund.

Wir hatten aus der Reihe der Cholera- und choleraähnlichen Vibrionen den Vibrio Elvers ausgewählt, weil gerade eine stark virulente Cultur vorhanden war, und die Phosphorescenz schon makroskopische Identificirung ermöglichte. Der Verlauf der Erkrankung ist ja bei gleichem Infectionsmodus bei allen so ziemlich identisch. Dass die Vibrionen nach der Injection so schnell aus der Blutbahn verschwanden und erst nach 24 Stunden wieder den Körper überschwemmten, ist nach den bekannten Untersuchungen von Wyssokowitsch[2]) leicht verständlich. Hervorheben möchten wir die Zeitdauer (48 Stunden) während welcher sie in grosser Menge im Blute kreisten, also fortdauernd bei sicher bedeutenden Ernährungsstörungen der Gefässwände und Epithelzellen das Gewebe der Milchdrüsen umspülten, ohne in die Ausführungsgänge und damit in die Milch selbst gelangen zu können.

---

1) Th. Rumpel, Studien über den Choleravibrio. Berliner klinische Wochenschr., 1895, S. 73.

2) Siehe Anmerkung 5 auf S. 207.

Bacillus bovis morbificans [1]).

Da unsere Cultur von Bac. bovis morbificans, subcutan beigebracht, nicht recht virulent war (die Controlthiere siechten theils durch Wochen hin, ohne regelmässig Bacillen im Blute zu zeigen, theils blieben sie überhaupt gesund), so wählten wir intraperitoneale, intrapleurale und intravenöse Injection.

Thier Nr. XXII.

Meerschweinchen von 560 g hat am 14. IX. Früh geworfen. Sehr reichliche Milchsecretion.

14. IX. 7h Abends erhält es in die linke Seite des Abdomens, möglichst weit von der Zitze entfernt, $^1/_2$ ccm einer 1 Tag alten Bouilloncultur von Bac. bovis morbificans.

15. IX. 10 h Vorm. Das Thier zeigt erhöhte Temperatur, sitzt zusammengekauert da; clonische Krämpfe, das Fell gesträubt. Blut und Milch steril.
2 h. Blut und Milch steril.
6 h. Desgleichen.

16. IX. 10 h Vorm. Aus dem Blut (2 Oesen) entwickeln sich 3 Colonien von Bac. bovis morbificans; Milch steril, die Secretion nimmt stark ab.
2 h. Aus Blut 4—5 Colonien von Bac. bovis morb., Milch steril.
6 h. Aus Blut 10 Colonien von Bac. bovis morb., Milch steril.

17. IX. 10 h. Aus Blut 9—10 Colonien von Bac. bovis morb., Milch rechter- wie linkerseits je 1 Colonie (aus 2 Oesen); die Secretion ist wieder reichlicher.
2 h. Blut mehrere Colonien, Milch links 2, rechts 1 Colonie.
6 h. Blut 7 Colonien, Milch links 2, rechts 3 Colonien.

18. IX. 10 h. Blut massenhaft Colonien, Milch links 1, rechts 2 Colonien.
11 h stirbt das Thier.

Peritoneum stark geröthet, die Gefässe dilatirt; in den Milchdrüsen und Nebennieren geringe Hämorrhagien.

Aus Leber, Milz, Niere, Herzblut zahlreiche Colonien von Bac. bovis morbificans. Das Junge bleibt gesund.

Thier Nr. XXIII.

Meerschweinchen von 680 g, hat am 21. X. geworfen, Milchsecretion reichlich.

2. XI. 6 h Abends erhält es in den rechten Pleuraraum 1 ccm einer 1 tägigen Bouilloncultur von Bac. bovis morbificans.

---

1) Fritz Basenau, Ueber eine im Fleisch gefundene infectiöse Bacterie. Archiv für Hygiene, Bd. XX, 1894, S. 242.

3\. XI. 10 h. Blut steril, Milch steril.
2 h. Desgleichen.
6 h. Blut steril, Milch links steril, rechts 4—6 Colonien von Bac. bovis morbificans.
6 1/2 h stirbt das Thier.

In den Milchdrüsen sehr geringe Hämorrhagien, in beiden Pleurahöhlen hämorrhagisches Exsudat. Organe nicht verändert. Herzblut, sowie Organe steril, aus dem Pleuraexsudat massenhaft Colonien von Bac. bovis morbificans. Das Junge bleibt gesund.

Thier Nr. XXV.

Meerschweinchen von 470 g, hat am 16. XI. geworfen, reichliche Milchsecretion.

20\. XI. 1 h erhält es 1 ccm einer 1 tägigen Bouilloncultur von Bac. bovis morbificans in die Vena jugularis.
1 h 10'. Aus dem Blut massenhaft Colonien, Milch steril.
20\. XI. 5 h. Aus dem Blut ca. 20 Colonien; Milch rechts steril, links 1 Colonie.
21\. XI. 8 h. Aus dem Blut zahlreiche Colonien; Milch rechts steril, links ca. 12 Colonien von Bac. bovis morbificans.
11 h stirbt das Thier.

Geringe Hämorrhagien in Milchdrüsen und Nebennieren, starke im Unterhautzellgewebe und in der Leber. Aus Leber, Niere, Milz und Herzblut zahllose Colonien von Bac. bovis morbificans. Das Junge bleibt gesund.

Wir wollen hervorheben, dass wir in Uebereinstimmung mit Basenau den Bac. morbificans bovis stets in der Milch wieder fanden; ferner, dass wir, unseren Erwartungen entsprechend Haemorrhagien in der Milchdrüse constatiren konnten, die allerdings oft sehr gering waren. Dass die bei den Mutterthieren gelassenen Jungen nicht inficirt wurden, ist wohl auf die bereits oben erwähnte Verminderung der Virulenz zu beziehen, ebenso die bedeutend längere Zeit, die der Bac. bovis morbificans bei unseren intraperitonealen resp. intrapleuralen Injectionen brauchte, um ins Blut zu gelangen (3/4 Stunden bei Basenau). Auffallend dagegen ist es, dass die Milch der einen Seite steril sein konnte, obgleich bei der Section beide Milchdrüsen dieselben Veränderungen zeigten. —

Einmal hatten wir auch Gelegenheit, bei einem säugenden Kaninchen, das eigentlich anderen Zwecken diente, die Milch auf Staphylococcen zu untersuchen: Das Thier war intrapleural

inficirt worden, und obgleich das Blut (in vivo) reichlich Staphylococcen zeigte, war die Milch steril.

Wir wollen jetzt einige Protokolle unserer Mischinfectionsversuche bringen. Vorauszuschicken ist, dass die Aufgabe, den Bac. anthracis, in dem Augenblicke ins Blut resp. in die Milch treten zu lassen, in dem ein Hämorrhagien erregender Pilz, der Pyocyaneus oder bovis morbificans seine Veränderungen an der Milchdrüse bereits gesetzt hat, nicht so einfach zu lösen war, als es erscheinen mochte. Bald überwog der eine, bald der andere, so dass das Bild ausschliesslich von ihm beherrscht wurde. Dann aber zeigten sich Erscheinungen des Antagonismus, die jede Vorausberechnung mittelst der Controlthiere fast unmöglich machten; so lebten oft die Thiere, die mit Bac. bovis morbificans und Anthrax geimpft waren, länger, als wenn sie nur mit einem von beiden inficirt worden wären.

Thier Nr. XXVII.

Meerschweinchen von 610 g, hat am 18. VI. geworfen; reichliche Milchsecretion.

22. VI. 5 h. Eine Aufschwemmung von Pyocyaneus (4 Oesen einer 1 Tag alten Agarcultur in 0,6 proc. ster. Kochsalzlösung) wird in die Vena jugularis injicirt; unmittelbar darauf erhält es eine halbe Oese Anthrax subcutan unter die Rückenhaut.
5 h 30'. Blut massenhaft Pyocyaneus, Milch steril.
8 h Abends. Blut reichlich Pyocyaneus, Milch steril.

23. VI. 9 h. Blut reichlich Pyocyaneus, ebenso Milch rechts und links Pyocyaneus.
11 h stirbt das Thier.

Rings um die beiden Milchdrüsen sind die Gefässe injicirt, die Milchdrüsen selbst hyperämisch, starke Hämorrhagien. Im Peritonealraum blutigseröses Exsudat, die Darmgefässe injicirt, die Leber parenchymatös degenerirt, Milz vergrössert, die Nebennieren vergrössert, durch Hämorrhagien fast zerstört. Aus Leber, Milz, Niere, Herzblut, Peritonealexsudat Pyocyaneus in Reincultur.

Es war also eine reine Pyocyaneusinfection, bei der der Anthrax nicht Zeit hatte, aufzukommen. Auch die Veränderung der Pigmentbildungsfähigkeit war wie bei Thier XII und den anderen früher erwähnten.

Thier Nr. XXIX.

Meerschweinchen von 540 g, hat am 1. VII. geworfen. Sehr reichliche Milchsecretion.

2. VII. 12 h. Erhält eine Oese Anthrax unter die Rückenhaut.
4 h. Blut und Milch steril.
3. VII. 8 h. Blut und Milch steril.
10 h erhält es 0,3 ccm einer 2 Tage alten Bouilloncultur von Pyocyaneus in die Ohrvene (die hier gerade sehr stark entwickelt war).
10 h 30'. Blut Pyocyaneus, Milch steril.
2 h. Blut Pyocyaneus (spärlich), Milch steril.
6 h. Blut Pyocyaneus (spärlich), Milch steril.
4. VII. Das Junge, das beim Mutterthier geblieben war, stirbt. Weder im Herzblut noch in den Organen desselben ist Pyocyaneus oder Anthrax nachweisbar. Ein zweites Junges (das vorher weggenommen worden war) wird zum Mutterthier gegeben.
8 h. Blut reichlich Anthrax und Pyocyaneus, Milch steril.
10 h. Blut massenhaft Anthrax und viel Pyocyaneus, Milch steril.
2 h. Blut massenhaft Anthrax und weniger Pyocyaneus, Milch steril.
6 h. Blut massenhaft Anthrax und weniger Pyocyaneus, Milch steril.
5. VII. In der Nacht stirbt das Thier.

Die post mortal abgenommene Milch zeigt 2 Anthraxcolonien von der linken Seite. Die Milchdrüsen zeigen keine Hämorrhagien. Blutig-gallertiges Anthraxödem unter der Bauchhaut. In den Nebennieren Hämorrhagien, Milz stark vergrössert, Darm geröthet. Aus Leber, Milz, Niere und Herzblut massenhaft Anthrax und einige Pyocyaneuscolonien. — Das Junge bleibt gesund.

Hier hatte der Anthrax vollkommen den Pyocyaneus verdrängt; trotz oder vielmehr infolge der Doppelinfection der beiden antagonistischen Bacterien hatte das Thier um mindestens 12 Stunden länger gelebt, als ein mit Anthrax allein inficirtes Controlthier. Die zwei post mortem aus der Milch aufgegangenen Anthraxcolonien haben natürlich nichts Beweisendes.

Wir setzten die Mischinfectionsversuche später ausschliesslich mit dem Bac. bovis morbificans fort.

Thier Nr. XXX.

Meerschweinchen von 470 g hat am 10. IX. geworfen; an Stelle der linken Zitze ist eine flache Narbe, die rechte ist normal und gibt reichlich Milch.

14. IX. 7 h Abends. Erhält eine intraperitoneale Injection von 1/2 ccm 1 Tag alter Bouilloncultur von Bac. bovis morbificans (auf der linken Seite hoch oben).

15. IX. 10 h. Blut steril, Milch steril.
11 h. Erhält eine Oese Anthrax unter die Rückenhaut.
2 h. Blut steril, Milch steril.
6 h. Aus Blut 2 Colonien Bac. bovis morbificans, Milch steril.
16. IX. 10 h. Aus Blut 4 Colonien Bac. bovis morbificans, Milch steril.
2 h. Aus Blut ca. 7 Colonien Bac. bovis morbificans, Milch steril.
6 h. Aus Blut 7—10 Col. Bac. bovis morbificans, Milch steril.
17. IX. 10 h. Aus Blut ca. 8 Col. Bac. bovis morbificans und massenhaft Anthrax, Milch steril.
2 h. Aus Blut nur Anthrax, Milch steril.
6 h. Aus Blut nur Anthrax, Milch steril.
7 h stirbt das Thier.

Die post mortem entnommene Milch steril. Keine Hämorrhagien der Milchdrüsen und Nebennieren, keine Flüssigkeitsansammlung in der Peritonealhöhle. Peritoneum intensiv geröthet, Gefässe desselben injicirt. Milz sehr stark vergrössert, blutreich; typisches sulzig-hämorrhagisches Anthrax-Oedem vom Rücken ausgehend über Rücken- und Bauchhaut bis zum Zwerchfellansatz reichend. Aus Leber, Milz, Niere, Herzblut geht ausschliesslich Anthrax auf. — Das Junge bleibt gesund.

Thier Nr. XXXI.

Meerschweinchen von 450 g hat am 18. X. geworfen; reichliche Milchsecretion.

23. X. 11 h. Erhält 1 ccm 1 Tag alter Bouilloncultur von Bac. bovis morbificans in die rechte Pleurahöhle.
4 h. Blut steril, Milch steril.
24. X. 10 h. Aus Blut 2 Colonien von Bovis morbificans, die Milch rechts steril, links 11 Colonien.
2 h. Blut 3—4 Col., Milch rechts steril, links zahlreiche Colonien.
6 h. Desgleichen.
25. X. 10 h. Blut 1 Col., Milch rechts steril, links massenhaft Colonien.
2 h. Desgleichen.
6 h. Blut ca. 3 Col., Milch rechts steril, links massenhaft Colonien.
1 h erhielt das Thier eine Oese Anthrax unter die Rückenhaut.
26. X. 10 h. Blut reichlich Bovis morbificans, Milch rechts spärlich, links massenhaft Bovis morbificans.
2 h. Blut reichlich Bovis morbificans, Milch rechts spärlich, links massenhaft Bovis morbificans.
6 h. Blut reichlich Bovis morbificans, Milch rechts reichlicher, links massenhaft Bovis morbificans.
27. X. 9 h stirbt das Thier.

Die post mortem entnommene Milch beiderseits Colonien von Bovis morbificans ergebend. In die linke Milchdrüse starke, in die rechte äusserst geringe Hämorrhagien, Nebenniere hyperämisch, Milz vergrössert, die Pleura intensiv geröthet mit kleinen Hämorrhagien, vielfach adhärirend, im Pleura-

raum eiteriges Exsudat, auf den Lungen Abscesse. Aus Milz, Leber, Niere, Herzblut ausschliesslich Bac. bovis morbificans.

1. XI. stirbt das Junge, das beim Mutterthier geblieben war. Aus Herzblut und Organen gehen Staphylococcen auf.

In diesem Falle überwog der Bac. bovis morbificans derart, dass er den Anthrax hinderte ins Blut einzutreten (beim Controlthier war Anthrax schon 24 Stunden nach subcutaner Impfung im Blute!).

Thier Nr. XXXII.

Meerschweinchen von 450 g, hat am 20. I. geworfen; reichliche Milchsecretion.

5. II. 6 h Abends erhält es eine Oese Anthrax unter die Rückenhaut.
6. II. 10 h. Blut steril, Milch steril.
11 h erhält es $^3/_4$ ccm 1 Tag alter Bouilloncultur von Bac. bovis morbificans intraperitoneal.
6. II. 2 h. Blut steril, Milch steril.
6 h. Desgleichen.
7. II. 10 h. Blut 1 Colonie Bovis morbificans, Milch steril.
3 h. Blut 3—4 Colonien Bovis morbificans, Milch steril.
7 h. Blut 1 Colonie Bovis morbificans und ca. 3 Col. Anthrax; Milch steril.
8. II. 10 h. Blut zahllose Colonien Anthrax, Milch steril.
1 h. Desgleichen.
4 h stirbt das Thier.

Die unmittelbar post mortem entnommene Milch gibt links 8, rechts 4 Colonien von Anthrax. Die Milchdrüsen zeigen äusserst geringe Hämorrhagien, die Nebennieren keine. Peritoneum stark geröthet, injicirt, eiterige Herde einschliessend. Seröses Exsudat. Milz vergrössert.

Aus den Eiterherden am Peritoneum geht Bovis morbificans, aus dem Peritonealexsudat Bovis morbificans und Anthrax, aus Milz, Leber, Niere, Herzblut ausschliesslich Anthrax auf. — Das Junge bleibt gesund.

Auch in diesem Falle glauben wir dem post mortalen Fund von Anthrax in der Milch keine entscheidende Bedeutung beilegen zu können, da ja während und infolge der Agonie die Keime hineingelangt sein können. Auffallend bleibt auch hier die Verzögerung des Ueberganges vom Anthrax ins Blut und seiner letalen Wirkung infolge der Mischinfection mit dem Bac. bovis morbificans.

Thier Nr. XXXV.

Meerschweinchen von 610 g, hat am 26. II. geworfen, wenig Milch.

14. III. 11 h. 1 Oese Anthrax unter die Rückenhaut.
6 h. Blut steril, Milch steril.

15. III. 10 h. Blut steril, Milch steril.
1 h erhält es 3 ccm einer 1 Tag alten Bouilloncultur von Bac. bovis morbificans intraperitoneal.
4 h. Blut 1 Colonie Anthrax, Milch steril.
8 h. Blut einige Colonien Anthrax, Milch steril.

16. III. 10 h. Blut massenhaft Anthrax, ebenso Milch der rechten Seite, Milch links steril. Die Milchsecretion ist wieder sehr reichlich. $^1/_2$ ccm wird aus den beiden Zitzen abgespritzt, mit Bouillon auf $1^1/_2$ ccm verdünnt und einem Meerschweinchen von 320 g unter die Rückenhaut injicirt. Das Thier stirbt nach 36 Stunden: typisches Anthraxödem, Milz stark vergrössert, aus Herzblut und allen Organen Anthrax.
2 h. Blut massenhaft Anthrax, ebenso Milch rechts und links.
6 h. Desgleichen.

17. III. In der Nacht stirbt das Thier.

Die post mortem entnommene Milch beider Seiten massenhaft Anthrax enthaltend und etwas blutig. Die Milchdrüsen zeigen sehr starke Hämorrhagien, ebenso Uterus und in geringerem Grade die Nebennieren. Milz sehr vergrössert, Leber mit Eiterflöckchen belegt, Peritoneum geröthet, serös-eiteriges Exsudat enthaltend.

Aus dem Peritonealexsudat gehen ausschliesslich Colonien von Bac. bovis morbificans auf, aus Leber, Milz, Niere, Herzblut neben einzelnen von diesen massenhaft Anthrax. — Das Junge bleibt gesund.

Dies ist ein Versuch, der uns ausschlaggebend und beweisend erscheint: während wir bei reiner Anthraxinfection diesen sonst nie — selbst post mortal nicht — in der Milch fanden, (sechs ganz gleich ausfallende Versuche!) konnten wir hier dadurch, dass wir mittels des Bact. bovis morbificans Hämorrhagien in der Milchdrüse setzten, den Anthrax in grossen Massen in vivo in die Milch gelangen lassen.

Dass der Bac. bovis morbificans nicht selbst in der Milch erschien, ist nicht merkwürdig: wir haben ihn in vivo auch im Blute vermisst, und die Hämorrhagien dürften (wie bei der Dipthherie) seinen Toxinen zuzuschreiben sein.

Dass das Junge nicht inficirt wurde, mag wohl auch daran liegen, dass das Mutterthier infolge seiner schmerzhaften Peritonitis es am letzten Tag nicht säugen liess.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen glauben wir dahin zusammenfassen zu dürfen, dass im allgemeinen nur jene Krankheitserreger in die Milch übergehen, welche

im Stande sind, Hämorrhagien oder solche Veränderungen in der Milchdrüse zu setzen, durch welche der normale Zusammenhang dieses Organs gestört wird. Bei sehr vielen Krankheiten, auch rein septikämischen Processen, wo das Blut mit Keimen überschwemmt ist und diese die Milchdrüsenelemente längere Zeit umspülen, wird die Milch bis zum Tode steril abgesondert, ja, kann sogar noch post mortem steril gewonnen werden. Als Beispiel diene die Infection mit Anthrax.

Infectionskeime, die mit der Milch ausgeschieden werden, erscheinen im strengeren Sinne nicht als Ausscheidungsproducte von Seiten der Drüse, sondern sind vielmehr mechanische Beimengungen infolge von Hämorrhagien oder localen Erkrankungen der Drüse selbst.

Dass aber ausser dem Erreger auch noch die betreffende Thierart in Betracht kommt, zeigt die vorerwähnte Arbeit von Malvoz, der bei französischen Schafen durch Anthrax Hämorrhagien in der Placenta erzeugen konnte, bei algerischen nicht.

Ob also die Milch eines kranken Thieres die betreffende Krankheit zu übertragen im Stande ist, muss für jede Infectionskrankheit für sich, ja sogar für jede Art von Säugethieren besonders bestimmt werden.

Doppelte Sandfiltration für centrale Wasserversorgung.

Von

Eugen Götze,

Oberingenieur des Wasserwerks Bremen.

Sandfilterwerke bestehen in Deutschland in grosser Anzahl und gerade unsere grössten Gemeinwesen sind mit Trinkwasser versorgt, das in ihnen erzeugt ist. Sie sind der Wasserversorgung im allgemeinen unentbehrlich, trotzdem die Fälle, in denen es von vornherein unmöglich war, eine Stadt mit Grundwasser zu versorgen, dadurch verringert sind, dass man das Eisen des Grundwassers bis zu einem erträglichen Endergebnis verringern kann. Bei richtiger Anlage und zuverlässiger Leitung, Dinge, die man bei grösseren Gemeinwesen zur Vorbedingung machen kann, sind die Sandfilterwerke für Filtration von Oberflächenwasser allen Anforderungen an eine gesunde Wasserversorgung mindestens ebensosehr gewachsen, wie viele Grundwasserversorgungen. Wo Gegentheiliges bekannt geworden ist, ist jenen Vorbedingungen auch nicht entfernt genügt gewesen, waren grobe Fehler nachzuweisen, die sich leicht vermeiden lassen, und die der Sache nicht zur Last gelegt werden dürfen, ebensowenig wie die Grundwasserleitungen deshalb principiell verworfen werden, weil in einer grossen Zahl von Fällen nachgewiesenermaassen Typhusepidemien durch sie unter Uebertragung der Keime auf weite Entfernung hervorgerufen sind[1].

---

1) H. A. Röchling, Einige Bemerkungen über Grundwasser und Oberflächenwasser. Gesundheits-Ingenieur, 1896, Nr. 20.

Im Sinne derer aber, die Oberflächenwasser für Trinkwasserversorgung aus theoretischen Erwägungen ganz verwerfen, den grossen Städten **Besseres** zu bieten, ist in manchen Fällen mit so enormen Kosten verknüpft, dass man es unmöglich nennen muss. Man kann in vielen Fällen dem Untergrunde die erforderlichen grossen Wassermengen nicht entnehmen, ohne dass man zu bedenklichen Hilfsmitteln greift. Gerade unsere berufensten Wasserversorgungstechniker sind darüber einig, dass man vielerorts, wenn man genügende Grundwassermengen haben will, den Vorrath der offenen Gewässer dienstbar machen muss und das Mittel, das Oberflächenwasser unter Umgehung der vielgeschmähten Sandfiltration zu ihrem Dienste zu zwingen, nennen die Einen natürliche Filtration, die Anderen künstliche Grundwassererzeugung. Was dabei herauskommt, darüber herrscht zwar noch keine Einigkeit, aber die Mehrheit ist der Ansicht, dass die Entnahme von Flusswasser durch natürliche Filtration nur ein trauriger Nothbehelf[1]), ist und dass dabei sicher nicht so Gutes, wie bei der künstlichen, centralen Sandfiltration heraus kommt.

Wenn wir uns im Nachstehenden mit deren Leistungsfähigkeit beschäftigen, so sei natürlich eine fehlerfreie, nach den Bestimmungen des Reiches über Filtration von Oberflächenwasser gebaute Anlage vorausgesetzt. Ich möchte zu den dort angegebenen Regeln noch als äusserst wünschenswerth die Verwendung von selbstthätigen Filterreglern[2]) hinzufügen.

Auch solche tadellos angelegte Filter haben Zeiten geringerer Leistungen, Zeiten, in denen eine Abhängigkeit des Bacteriengehaltes des Filtrats von dem des Rohwassers sicher und zweifellos festgestellt werden kann. Es sind das die ersten Tage nach

---

1) Verhandlungen des Deutschen Vereins der Gas- und Wasserfachmänner, 1897 Leipzig und 1898 Nürnberg.

2) E. Götze, Selbstthätige Wasseraustrittsregler, besonders für Filter. Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung, 1897, S. 169 ff. — Pannwitz, Filtration von Oberflächenwasser in den deutschen Wasserwerken während der Jahre 1894 bis 1896. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. XIV, (1898), S. 261.

jeder Filterreinigung und die Zeiten, in welchen der zur Versorgung herangezogene Fluss hochwasserartig[1]) anschwillt.

Den schädlichen Einfluss der Reinigungen auf die qualitative Arbeit des Filters aus den üblichen bacteriologischen Zählungen zu erkennen, bedarf es eines Rohwassers mit mittlerem oder noch schlechterem Bacteriengehalt. Bei ganz niedrigem Keimgehalt des Rohwassers verwischt sich der Einfluss der Reinigung. Je höher der Bacteriengehalt des Rohwassers ist, um so höher ist auch der Bacteriengehalt des Filtrates nach der Reinigung und um so länger währt es, bis die Keime des Filtrates auf die gewohnte niedrige Zahl, also unter 100 pro Cubikcentimeter gesunken sind. In diesen ersten Tagen nach der Reinigung — je nach der Menge der im Rohwasser enthaltenen Bacterien also länger oder kürzer — reducirt das Filter die Bacterien in irgend einem Verhältnis und zwar in geringem Maasse am Tage nach der Reinigung, dann immer stärker. Ausser in diesen Tagen der Schwäche kann man keinen Zusammenhang zwischen der Zahl der Rohwasserbacterien und der Zahl der Filtratbacterien feststellen. Wir wollen schon hier hinzufügen: vorausgesetzt, dass das Rohwasser nicht hochwasserartigen Charakter annimmt. Die Bacterien des normalen Rohwassers mögen zwischen etwa 600 und 6000 im Cubikcentimeter schwanken, das Filtrat wird, nachdem der Einfluss der Reinigung vorüber, gleichmässige niedrige, vom Bacteriengehalt des Rohwassers unabhängige Zahlen aufweisen, Zahlen, die sich in nichts von denen unterscheiden, die man von Proben aus den Zapfhähnen einer guten Grundwasserleitung erhält und Zahlen, die man auch nicht mit Zwang in die Uniform einer bestimmten Verhältniszahl bringen kann. Trägt man sich die Keimzahlen in ein Diagramm als Höhen auf, für Rohwasser und Filtrat von der gleichen Nulllinie aus, so wird man sehen, dass die so

1) Dies »hochwasserartig« in unserem Sinne verlangt als Kennzeichen nicht eine Höhe des Wasserstandes, die Ueberschwemmungen herbeiführen und Deiche gefährden kann, sondern sie ist charakterisirt durch die bei einer beliebigen Anschwellung herangeführten, ausserordentlichen Mengen von Bacterien und von trübenden Bestandtheilen.

entstandene Keimcurve des Filtrates nicht den geringsten Versuch macht, der des Rohwassers parallel zu verlaufen, dass sie vielmehr mit geringem Abstande der Nulllinie parallel verläuft. Diese Thatsache deckt sich vollkommen mit der Forderung der Reichsbestimmungen, dass die Keimzahl 100 nicht überschritten werden soll, wenn, was auch dort Voraussetzung ist, die erste Zeit nach der Reinigung grundsätzlich aus der Filterperiode herausgeschnitten wird. Denn die ungenügende Wirkung nach der Reinigung kann sich z. B. zwischen den Zahlen 20 und 90 abspielen. Die genügend bekannte, aber oft überhaupt nicht und oft ungenügend befolgte Forderung, dass das erste Filtrat nach Reinigungen von der Versorgung ausgeschlossen bleiben soll, ist in der Unzuverlässigkeit der Filterthätigkeit während dieser ersten Periode durchaus begründet; selbst wenn die Keimzahlen die Zahl 100 nicht überschreiten, ist die Spülung des Filters nöthig. Ist das Filter aber erst einmal eingearbeitet, so liegt in der constanten Keimzahl des Filtrates die Gewähr, dass die Filtration eine vollkommene ist.

Die constanten Keimzahlen des Filtrates hören sofort auf bei hochwasserartigen Anschwellungen des Stromes, die durch wenigstens 10000 bis 20000 Keime pro Cubikcentimeter gekennzeichnet sind, oft aber auch 50000 und bis zu 100000 Keime pro Cubikcentimeter auf die Filter bringen. Die Filter werden dann in ihrer gleichmässigen Thätigkeit beunruhigt, die Keimzahlen der Filtrate bleiben nicht mehr constant, sondern sie steigen schnell auf mehrere hundert, ja mehrere tausend, bis das Hochwasser abschwillt, wobei sofort die Filtratkeimzahlen schroff gegen Null hin abfallen, aber nur gegen Null hin, nicht bis Null, sondern nur bis zu der gewöhnlichen, praktisch constanten Zahl.

Diese kurzen Perioden, in denen das Einzelfilter schlechter arbeitet, müssen aus dem sonst so zuverlässigen Gesammtbetriebe des Filterwerkes herausgeschnitten werden. Es handelt sich also um deutlich vorauszuerkennende Perioden, für deren Constatirung man von bacteriologischen Untersuchungen, welche ja erst nachträglich Ergebnisse zeitigen, ganz unabhängig ist: um Hochwasser, um die Zeit nach Reinigungen, wozu noch

die Zeiten nach Sandauffüllungen kommen, in denen das Filter wochenlang überhaupt nicht Filter in unserem Sinne ist.

Es sei hier eingeschoben, dass es sich nur scheinbar um zwei oder drei von einander trennbare äussere Einflüsse handelt. In Wahrheit ist es bei Hochwasser und nach Reinigungen ganz dasselbe, was die Filterthätigkeit beeinträchtigt: in beiden Fällen der Mangel einer für den gerade vorhandenen Keimgehalt des Rohwassers genügenden Verschlammung, ein Mangel, der durch die aus anderen Gründen unvermeidliche Reinigung bedingt ist. Hätte das Rohwasser schon bei der Filterreinigung Hochwassercharakter gehabt, so würde der Einfluss der Reinigung eine Reihe von Tagen länger gedauert haben. Hatte das Rohwasser bei der Reinigung bessere Eigenschaften, so hatte das Filter für diese geringe Keimzahl bald eine genügend gute Verschlammung, nicht aber für die spätere hohe Keimzahl, so dass anscheinend zwei getrennte Einflüsse zu constatiren sind. Aus diesem gemeinschaftlichen Ausgange zweier getrennt auftretender Erscheinungen erklärt sich der Umstand, dass das Hochwasser auf mehr verschlammte Filter weniger schädlich einwirkt.

Diese besprochenen Perioden minderer Arbeitsleistung der Einzelfilter müssen also für das Gesammtergebnis unschädlich gemacht werden und die einzige Art und Weise, das zu erreichen, ist die Nachfiltration in verschlammten Filtern bei Ueberführung des Vorfiltrates ins Nachfilter mittels natürlichen Gefälles[1]). Und das einzige Mittel, ein richtig und an der ganzen Fläche gleichmässig verschlammtes Nachfilter zu erhalten, ist, es mit Rohwasser von nicht zu schlechter Beschaffenheit einzuarbeiten[2]).

1) Götze, Doppelfiltration, Journ. f. Gas- und Wasservers., 1896, S. 2 und ff.; Doppelfiltration, Zeitschr. des Vereins Deutscher Ingenieure, 1896, S. 820; erste Versuche mit Grossfiltern im Herbst 1894. — Pannwitz, Filtration von Oberflächenwasser in den deutschen Wasserwerken während der Jahre 1894 bis 1896. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. XIV (1898), S. 266 ff. — Kurth, Erster Bericht über die Thätigkeit des bacteriologischen Instituts zu Bremen, 1893 bis 1897, S. 15 und 16.

2) Eine künstliche Schlammhaut für das Nachfilter herzustellen, woran man dabei denken könnte, ist geradezu unmöglich. Wenn man dazu Thon

Eine Nachfiltration kommt also nur bei Hochwasser, nach Reinigungen und nach Auffüllungen in Betracht. Ausser in diesen Perioden genügt die einfache Filtration. Wenn nun auch diese drei Fälle ihre letzte Erklärung in demselben Punkte, der mangelhaften Verschlammung finden, so sind sie im Betrieb dennoch zu trennen und zwar in zwei Gruppen von Erscheinungen, deren erster die Zeiten nach Filterreinigungen und nach Sandauffüllungen angehören und deren zweiter die Hochwasserperioden.

Nach Reinigungen wird wenigstens 48 Stunden nachfiltrirt, wenn das Rohwasser so beschaffen ist, dass nach den örtlichen Erfahrungen binnen 48 Stunden der schädliche Einfluss der Reinigung vorüber ist. Weniger als 48 Stunden zu nehmen empfiehlt sich bei der nothwendig geringen anfänglichen Filtergeschwindigkeit nicht.[1]) Liegt der geringste Verdacht vor, dass der schädliche Einfluss der Reinigung wegen schlechterer

nehmen möchte, so muss man ihn im Wasser, aus dem er sich auf dem reinen Filtersand niederschlagen soll, so fein vertheilen, wie er im Flusswasser vertheilt ist; das ist so fein, dass Wasser und Thon gewissermaassen ein innig verbundenes Ganzes sind. Nur dann kann man auf ganz gleichmässige Vertheilung auf der ganzen Filterschicht rechnen. Und hat man diese Schwierigkeit überwunden, so hat man das grobe Sandsieb, das ein nicht eingearbeitetes Filter ist, in ein feines Thonsieb verwandelt, aber lange noch nicht in ein biologisches Filter, was es doch sein soll. Dazu gehören die Bacterienwucherungen. Nun gäbe es ja ein vorzügliches Material für eine künstliche Schlammdecke, das wäre der aus dem schmutzigen Sand herausgewaschene Schlamm, der ja identisch ist mit dem Material, mit dem sich das Filter selbst einarbeitet. Vor dessen Verwendung zu solchen Zwecken muss ich aber ganz nachdrücklich warnen. Auch hier ist das einzige Mittel zu gleichmässiger Vertheilung das, den Schlamm mit Wasser vermischt, über den Filtersand zu bringen, damit er sedimentiren kann. Dabei bildet man aber ein enorm bacterienhaltiges Wasser, dem kein Filter gewachsen ist, zumal es während des vorgeblichen, ruhigen Abstehens in das Filterbett hineindringt. Denn kaum ein Filterbecken ist absolut dicht, es ist vielmehr stets ein, wenn auch geringer Zug des Wassers nach unten da. Anstatt also durch die sich ablagernde Schlammdecke das Filter keimsicher zu machen, wird man bei einem solchen Experiment die Bacterien des Schlammgemisches tief in den Filtersand hineindrängen.

1) Ueber die geringste Zeit des Nachfiltrirens siehe Götze, Verb. u. Ersparnisse etc. Journal für Gasbel. und Wasservers., 1896, S 2.

Beschaffenheit des Rohwassers länger währt, so wird so lange nachfiltrirt, bis die bacteriologischen Untersuchungen nachweisen dass das Einfachfiltrat einwandfrei ist. Dabei muss beachtet werden, dass man am ersten Tage nach der Reinigung fast immer ein gutes Resultat der bacteriologischen Zählung erhält und bei richtiger Behandlung des Filters erhalten muss, und dass das Maximum der Keimzahl erst aus der am zweiten Tage entnommenen Probe erhalten, also nach 3 mal 24 Stunden gezählt wird.

Es ist gelegentlich[1]) behauptet worden, dass mein System viel mehr bacteriologische Untersuchungen verlange, als sonst nöthig sei. Das ist aber durchaus nicht zutreffend. Filtrirt man nur einfach, so muss man das erste Filtrat nach einer Reinigung unbenutzt ablaufen lassen und wird gerade dann viel sorgsamer und öfter bacteriologisch untersuchen müssen, damit man wegen der Kosten des Laufenlassens ja genau die Zeit abpasst, wo man das Filtrat benutzen darf. Dagegen hat man diese Aengstlichkeit bei meinem System nicht nöthig, weil die Nachfiltration hygienisch immer nur Nutzen bringt, selbst wenn sie streng genommen nicht nöthig wäre, und weil sie wirthschaftlich Ersparnisse, aber keine Kosten verursacht. Hat man ein Filter neu mit Sand aufgefüllt, so filtrirt man das Filtrat ebenfalls nach, bis die bacteriologischen Untersuchungen einwandfreie Ergebnisse aufweisen. Auch in diesem Falle kommt man mit weniger Untersuchungen aus, als bei einfacher Filtration mit dem unvermeidlichen Laufenlassen. Bekannt ist, dass nach Auffüllungen das Filtrat wochenlang mangelhaft ist, manchmal, soweit die Zahl der Bacterien dafür maassgebend, schlechter als das Rohwasser. Aber auch im ungünstigsten Falle ist das Filtrat eines aufgefüllten Filters als Rohwasser noch gut genug und wird im Nachfilter zuverlässig verarbeitet. Da nun Kosten durch die Nachfiltration für den Betrieb nicht entstehen, so kann man, wenn man die bacteriologischen Untersuchungen sparen will, die beiden Filter, das aufgefüllte und sein Nachfilter, die ersten etwa

1) Halbertsma u. van t'Hoff, Die Resultate der doppelten Filtration zu Schiedam. Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung 1896.

14 Tage ruhig sich selbst überlassen, ohne Proben zu nehmen. Während das Nachfilter unbedingt einwandfreies Filtrat ergibt, arbeitet sich das Vorfilter ruhig und gleichmässig ein. Und ist sein Filtrat nach 14 Tagen noch nicht einwandfrei, nun so filtrirt man weitere 8 oder 14 Tage nach und berücksichtigt dabei leicht, dass die neu aufgefüllten Filter Neigung zu Rückfällen haben.

Auch die schädliche Einwirkung des Hochwassers muss man vorhersehen können, wenn die Erfolge der Nachfiltration vollkommene sein sollen; es genügt nicht, abzuwarten, bis bacteriologische Untersuchungen schlechte Resultate vor Augen führen. Das Hochwasser lässt sich rechtzeitig erkennen an der Erhebung des Wasserspiegels — die erforderlichen Falles telegraphisch vom Oberlauf her angezeigt werden kann — ferner an der grösseren Menge der Trübungen, die das Rohwasser aufweist. Dauernde Klarheitsbeobachtungen des Rohwassers belasten das Betriebspersonal nicht und sind jedenfalls von hohem Werth. Für richtige Beurtheilung solcher Vorzeichen sind natürlich örtliche Erfahrungen nöthig. Der Umstand, dass Sommerhochwässer im allgemeinen viel weniger bacterienreich sind als Herbst- und Frühjahrshochwässer, ist zu beachten.

Sobald die angeführten Kennzeichen schwer zu filtrirendes Wasser erwarten lassen, müssen die Filter rechtzeitig für Doppelfiltration umgestellt werden, ehe noch die als Nachfilter zu verwendenden selber schlecht filtriren. Und zwar müssen bei den ersten Anzeichen diejenigen Filter, die zuletzt gereinigt sind, zu Vorfiltern gemacht werden, später besser eingearbeitete, die stark verschlammten können unter Umständen einfach filtrirtes Wasser direct in das Sammelbassin geben. Der gute Erfolg ist natürlich, indem das mangelhafte Filtrat immerhin noch ein brauchbares, meist gar gutes Rohwasser darstellt. Aus dem Grunde bestehen gar keine Bedenken, die hier gewonnenen guten Ergebnisse auf andere Orte zu übertragen und gleich guter Ergebnisse für andere Werke sicher zu sein. Versuche an anderen Orten könnten nur für solche Filtergeschwindigkeiten wünschenswerth erscheinen, die die örtliche Maximalfiltergeschwindigkeit,

bei der erfahrungsmässig mit normalem Rohwasser noch gute Resultate erlangt werden, überschreiten [1]).

Tabelle I.

Keimzahlen der Filter 2 (Vorfilter) und 1 (Nachfilter) beim Hochwasser im März 1896.

Tag der Probeentnahme	Keime im Rohwasser, auf d. Filter, bevor zur Ruhe gekommen, also nach Ablagerg.	Keime des Filters 2 Vorfilter vom 5. III. bis 22. III.	Keime des Filters 1 Nachfilter vom 5. III. bis 22. III.
2. III. 1896	950	80	25
5. III. 1896	2 400	150	76
Die Filter werden zur Doppelfiltration umgestellt, d. h. das Filtrat des Filters 2 wird statt in den Reinwasserkeller mittels Heberleitung in den Rohwasserraum des Filters 1 geleitet, dessen Rohwasserzulauf abgesperrt wird.			
9. III. 1896	19 500	116	36
10. III. 1896	23 100	295	17
11. III. 1896	28 100	780	31
12. III. 1896	16 900	616	60
13. III. 1896	19 500	610	55
14. III. 1896	10 100	620	34
15. III. 1896	11 300	185	22
16. III. 1896	9 000	155	48
17. III. 1896	4 200	95	24
18. III. 1896	4 600	76	24
19. III. 1896	2 250	74	24
20. III. 1896	1 650	38	20
21. III. 1896	1 800	63	26
22. III. 1896	1 400	49	33
Die Doppelfiltration wird unterbrochen, also das Filtrat des Filters 2 wird anstatt in den Rohwasserraum des Filters 1 wieder in den Reinwasserkeller geleitet, in den Rohwasserraum des Filters 1 wird Rohwasser geleitet, und das Filtrat des Filters 1 läuft nach wie vor in den Reinwasserkeller.			
23. III. 1896	1 000	32	28
24. III. 1896	1 000	49	38
25. III. 1896	740	77	49
26. III. 1896	680	80	23
27. III. 1896	840	38	14
28. III. 1896	700	24	9
30. III. 1896	760	31	10

1) Für Versuche halte ich nur die Verwendung von Grossfiltern für zulässig, für welche die Einrichtung für Doppelfiltration auf einfachste Weise getroffen werden kann. Die Benutzung meines Patentes für vorübergehende Versuche werde ich im einzelnen Falle nach besonderer Anfrage gern gestatten.

In der Tabelle I sind einige bei dem letzten Hochwasser mit sehr starken Trübungen gewonnene Resultate aufgezeichnet. Auch an dieser Stelle will ich für diejenigen, die eventuell in häufigen bacteriologischen Untersuchungen einen Nachtheil sehen, hervorheben, dass mein System dieselben nicht öfters verlangt als Einfachfiltration, sondern weniger. Hat man mittels Einfachfiltration ein Hochwasser zu bewältigen, so muss man alle Mittel heranziehen, um sich von dem guten oder schlechten Ergebnis zu überzeugen und steht zuletzt doch mit gebundenen Händen da. Bei der Doppelfiltration ist es gewiss interessant, auch die Vorfilter bacteriologisch zu untersuchen, aber durchaus nicht nothwendig, weil man in ihnen nur ein besseres Rohwasser für die Nachfilter erzeugt.

Ein ausserordentlich wichtiges Ergebnis der Doppelfiltration neben der Entfernung der Bacterien ist die bei jeder Gelegenheit geprüfte und nachgewiesene Reinigung des Wassers von thonigen Trübungen. Die Hochwässer sind ja nicht nur sehr bacterienreich, sondern auch stark durch erdige und thonige Suspensionen getrübt. Diese werden bei einfacher Filtration weit vermindert, aber nie gänzlich beseitigt. Es ist thatsächlich leichter, die Bacterien aus dem Wasser herauszufiltriren als den sehr fein vermahlenen Thon eines Hochwassers. Das einfache Filtrat sieht in solchen Fällen bläulich aus, es opalescirt stark. Kein Filter des chemischen Laboratoriums in beliebig vielfacher Wiederholung ist im Stande, solche Trübungen aus dem Filtrat zu entfernen. Wohl aber die Nachfiltration durch ein eingearbeitetes Sandfilter, das beste Filter, das überhaupt existirt. In Bremen musste früher bei jedem Hochwasser Filtrat mit mehr oder weniger Trübungen — abgesehen von seinem Bacteriengehalt — in die Stadtleitung gegeben werden; in der Stadt konnte man an jedem Zapfhahn auch aus geringen Quantitäten Wasser erkennen, dass die Weser Hochwasser führte. Das ist seit Einführung der Doppelfiltration vorbei. Nur auf dem Wasserwerk selbst und nur mit Apparaten, die scharfe Klarheitsbeobachtungen gestatten, konnte man in ganz schlimmen Fällen und bei einer wegen Reparaturen stark reducirten Filterfläche am Gesammtfiltrat eine ganz leichte Trübung

bemerken, die für die Abnehmer einfach nicht existirte. Auch dies belege ich in Tabelle II mit einigen Zahlen. Die Angaben stammen von einem Hochwasser, an dem sich die Trübungen in den verschiedenen Stadien der Verarbeitung des Wassers recht gut aus einanderhalten liessen. Sie beziehen sich auf dieselben Proben wie die Tabelle I.

Tabelle II.

Klarheitsgrade der Filter in Tabelle I an denselben Tagen.

Klarheitsgrad 0 = undurchsichtig,
» 100 = ganz klar.

Tag der Probeentnahme	Klarheitsgrad des Rohwassers	Klarheitsgrad des Filters 2. Vorfilter vom 5. III. bis 22. III.	Klarheitsgrad des Filters 1. Nachfilter vom 5. III. bis 22. III.
2 III. 1896	53	ganz klar	ganz klar
5. III. 1896	56	»	»
Umstellung zur Doppelfiltration am 5. III. 1898.			
9. III. 1896	3	ganz klar	ganz klar
10. III. 1896	$3^1/_2$	74	»
11. III. 1896	$5^1/_2$	61	»
12. III. 1896	$6^1/_2$	60	»
13. III. 1896	$7^1/_2$	63	»
14. III. 1896	9	65	»
15. III. 1896	14	70	»
16. III. 1896	$16^1/_2$	87	»
17. III. 1896	22	95	»
18. III. 1896	28	ganz klar	»
19. III. 1896	32	»	»
20. III. 1896	40	»	»
21 III. 1896	46	»	»
22. III. 1896	48	»	»
Umstellung zur einfachen Filtration.			
23. III. 1896	62	ganz klar	ganz klar
24. III. 1896	58	»	»
25. III. 1896	57	»	»
26. III. 1896	60	»	»
27. III. 1896	59	»	»
28. III. 1896	55	»	»
30. III. 1896	53	»	»

Nochmals sei die Nothwendigkeit betont, dass das als Nachfilter zu verwendende Filter gut eingearbeitet, also verschlammt

sei. Nicht nothwendig ist es, dass das Nachfilter stärker verschlammt ist als das Vorfilter, denn davon hängt der Erfolg durchaus nicht ab. Das Sandfilter wirkt nicht als Sieb, dem durch stärkere Verschlammung eine feinere Maschenweite verliehen wird, sondern infolge von biologischen Vorgängen. Ein Nachfilter mit beispielsweise 10 cm Filterdruck wird die 1000 bis 2000 Bacterien pro Cubikcentimeter, die durch ein Vorfilter von 30 cm Filterdruck durchgeschlüpft sind, ganz zuverlässig verarbeiten, obwohl es nach Ausweis der Druckhöhen weniger dicht ist als das mit gleicher Geschwindigkeit arbeitende Vorfilter. Das Nachfilter muss aber überhaupt in irgend einem Grade verschlammt, oder, mit anderen Worten, überhaupt eingearbeitet sein, wenn man Sicherheit haben will.

Eine andere Erfahrung sei noch hervorgehoben, dass nämlich das Nachfilter ein Filtrat mit 30 bis 40 Keimen nicht mehr und nicht besser zu reinigen vermag, als es das Vorfilter gethan hat. Und doch hat selbstredend in einem solchen Falle das Nachfilter dieselbe Arbeitskraft, als wenn es 1000 Bacterien pro Cubikcentimeter verarbeitet, eine Leistung, die es erfahrungsmässig mit Leichtigkeit vollbringt. Die 30 bis 40 Bacterien stammen eben aus den Rohren und Canälen des Filters und nicht von dem Rohwasser her. Wird das Filtrat mit 30 bis 40 Bacterien nachfiltrirt, so erhalte ich aus dem Nachfilter nicht Wasser mit 1 oder 2 Bacterien, sondern auch solches mit 30 bis 40, ja unter Umständen mit 60 bis 70 und zwar letzteres nicht vorübergehend, sondern Tage, auch Wochen lang hintereinander.

Hieraus ist der Fehler ersichtlich, den man begeht, wenn man Filtrationseffecte durch Verhältniszahlen darstellt. Bei einem Nachfilter, das als Rohwasser solches mit 35 Keimen verarbeitet und wegen der Eigenkeime ein Filtrat mit 70 Keimen erzeugt, würde der Effect der sein, dass das Filtrat 200% der Bacterien des Rohwassers enthielte und trotzdem würde das Filter ohne Zweifel sehr befriedigend arbeiten, obwohl man es nach dieser Methode für sehr mangelhaft halten müsste. Und andererseits würde man ein Filtrat mit 1000 aus 100000 zurückgebliebenen Bacterien für ein sehr gutes erklären, denn die

zurückgebliebenen Keime waren ja nur 1%, der Effect also anscheinend ebensogut, als wenn aus Rohwasser mit 1000 Bacterien Filtrat mit 10 erzeugt wird [1]).

Die Nachfiltration technisch durchführbar zu machen, gibt es nun der Mittel mehrere. Das nächstliegende scheint das zusein, dass die Filter von vornherein in Vor- und Nachfilter getrennt werden, dass man die Vorfilter sämmtlich in eine höhere Terrasse legt, die Nachfilter in eine tiefere Terrasse, und den Höhenunterschied beider Arten von Filtern so gross macht, dass das Wasser der Vorfilter auch bei grosser Druckhöhe noch auf die Nachfilter ablaufen kann, also 1 bis 2 m. Wir werden sehen, dass solche Anlagen wirthschaftlich und hygienisch minderwerthig sind.

Erste Bedingung ist für jede Doppelfiltration, dass jedes Filter mit Sand von solcher Korngrösse gefüllt ist, dass das Filter überhaupt filtrirfähig werden kann. Das Vorfilter mit kiesartigem Material zu füllen und dann zu verlangen, dass es als Filter wirken soll, das sind unvereinbare Dinge. Ausgeführt hat man es allerdings so, aber der Erfolg blieb selbstverständlich aus.

Ist jedes Filtermaterial für sich geeignet, ein Filter in unserem Sinne zu bilden, so ist es gleichgiltig, ob das Vorfilter mit grobem, das Nachfilter mit feinem Sande gefüllt ist: von der Feinheit des Kornes hängt die Filtrirfähigkeit des Filters nicht ab, wenn das Korn überhaupt brauchbar ist, sondern davon, ob das Filter eingearbeitet, verschlammt ist. Ist es das nicht, so kann auch eine feine Sandsorte dem Nachfilter keine genügende Leistungsfähigkeit geben [2]).

---

1) Man liest im Gesundheits-Ingenieur vom 31. December 1898, dass für die Erweiterung der Wasserversorgung von Moskau »amerikanische Unternehmer das Entfernen von 97% der vorhandenen Bacterien aus dem zu reinigenden Wasser gewährleisten«. Also bei einem Hochwasser mit nur 50000 Bacterien im Cubikcentimeter bleiben im Filtrat 1500 Keime pro Cubikcentimeter. Das ist für die Unternehmer recht bequem, aber »Filtration« ist es nicht.

2) Halbertsma, Filteranlagen in den Niederlanden. Journal für Gas- und Wasserfachmänner, 1892, S. 43. Es heisst dort: »Wo zweimalige Filtration (Vor- und Nachfilter) angewandt wird, ist das Vorfilter meistens mit gröberem Flusssand und das Nachfilter mit feinerem Dünensand abgedeckt. Es wird aber dadurch kaum ein den Mehrkosten entsprechender Erfolg erzielt.«

Das Vor- und das Nachfilter muss eine Schlammdecke haben. Vorfiltrirtes Wasser setzt praktisch gar keinen Schlamm ab, jedenfalls nur nach langen, langen Zeiten. Deshalb wird ein Nachfilter, das nur vorfiltrirtes Wasser verarbeitet, immer unzuverlässig sein. Solange das Rohwasser nicht zu schlecht ist, thut das Vorfilter allein seine Pflicht vollauf — denn es ist verschlammt — das Nachfilter hilft nichts, schadet nichts. Und wenn das Vorfilter seine Pflicht nicht voll thut, so hilft das nicht verschlammte Nachfilter auch nichts.[1])

Die zweite Bedingung für erfolgreiche Nachfiltration ist also, dass das Nachfilter vor seiner Benutzung als solches mit Rohwasser, das in der Lage ist, Schlamm abzusetzen, eingearbeitet wird, wie auch Kabrhel in seiner Arbeit sehr richtig angibt.[2])

Also auch ein terrassenartig angelegtes Filterwerk für Doppelfiltration müsste wenigstens so eingerichtet sein, dass in das Nachfilter Rohwasser eingelassen werden kann. Weshalb aber dieser kostspielige Umweg, Vorfilter und Nachfilter zu bauen, wenn man sie ausserdem doch für einfache Filtration einrichten muss?

Man kann die Filter viel einfacher und ohne die enormen Kosten und Filterflächen eines terrassenartig angelegten Werkes aufzuwenden, in die für Nachfiltration geeignete Verfassung bringen. Man hat es nicht nöthig besondere Vorfilter und Nachfilter zu bauen und dann sämmtliche so einzurichten, dass jedes Rohwasser verarbeiten kann. Man legt vielmehr die Filter so an, wie gewöhnlich: alle gleich hoch, oder wenn das Werk für einfache Filtration schon fertig ist, so benutzt man es wie es ist, und zu dieser gewohnten Einrichtung fügt man nur einfache Verbindungsleitungen der Art, dass man die einfachen Filter als Nachfilter oder als Vorfilter benutzen kann oder auch umgekehrt als Vorfilter und als Nachfilter, eins natürlich nach dem andern, aber ganz nach Belieben. Im Bremer

1) Halbertsma und van t'Hoff, Die Resultate der doppelten Filtration zu Schiedam. Journal für Gas- und Wasserfachmänner. 1896.

2) Kabrhel, eine Vorvollkommnung des Filtrationseffectes bei der Centralfiltration. Hygienische Rundschau, 1897, S. 481 ff., spec. S. 485.

Filterwerk für Doppelfiltration sind alle Filter gleich hoch angelegt, alle haben eine absperrbare Zuflussleitung für Rohwasser, alle eine absperrbare Abflussleitung für Filtrat zum Reinwasserkeller führend. Das ist ganz so wie bei einem Filterwerke für einfache Filtration und in der That bestand ja das Bremer Werk vor Einführung der Doppelfiltration genau so und genau mit derselben Filterfläche wie heute.[1]) Was dazu gekommen ist, sind nur die Heberleitungen von dem Reinwasserraum eines Filters in den Rohwasserraum eines anderen Filters, durch welche die Filter des ganzen Werkes so unter sich verbunden sind, dass jedes Filter einfaches Filter, Vorfilter und Nachfilter sein kann. Die Heber sind gewöhnlich durch einen geöffneten Hahn mit der Luft in Verbindung, also unter atmosphärischem Drucke. Wasser kann so nicht durch sie hindurch fliessen, da sie an einer Stelle höher liegen als der höchste Wasserspiegel der Filter. Das ist sehr wichtig für die ganze Anlage. Sollen die Heber gebraucht werden, so wird der Lufthahn geschlossen und das Innere des Hebers wird evacuirt, auf irgend eine Weise. Von den vielen der Technik für die Evacuirung zu Gebote stehenden Mitteln benutze ich am liebsten Wasserstrahl-Luftejectoren, ganz kleine Apparate, die durch ein Rohr an die Druckwasserleitung angeschlossen sind und die Heberleitung in wenigen Minuten evacuiren. Der Rohwasserzulauf desjenigen Filters, das als Nachfilter dienen soll, wird natürlich geschlossen, der Reinwasserablauf desjenigen Filters, das als Vorfilter dienen soll, auch geschlossen und damit stellt sich die Druckhöhe zum Ueberfliessen des Filtrats vom Vor- zum Nachfilter, das natürliche Gefälle zum Weitertransport des Vorfiltrates, von selber ein. Während der Dauer des Nachfiltrirens bleibt der Wasserspiegel des Nachfilters soviel niedriger, als zum Hinüberlaufen nöthig ist, was das Filter ohne jeden Schaden vertragen kann, da wir immer wenigstens 1 m, oft aber viel mehr Wasserhöhe über dem Sande haben, zumal wenn wir weniger Sand im

1) **Kurth**, Erster Bericht über die Thätigkeit des bacteriologischen Instituts zu Bremen, 1893 bis 1897, S. 16.

Filter haben als gerade die höchste Füllung. Nach einer Reinigung kommen in den ersten 4 bis 5 Tagen, die man im äussersten Falle für die Nachfiltration braucht, von der verfügbaren Wasserhöhe von 100 bis 200 cm höchstens 10 bis 20 cm für die Nachfiltration in Frage, also der Wasserspiegel des Nachfilters liegt vorübergehend 10 bis 20 cm tiefer als der des Vorfilters. Das ist so wenig, dass es überhaupt kaum zu merken ist. Der Einfluss der wechselnden Dicke der Sandschichten auf die über dem Sande stehende Wasserschicht würde viel bedeutender sein, wenn davon überhaupt zu reden wäre. Die geschilderte Anlage ist eine der verschiedenen Lösungen, in die mein Patent 84837 gebracht werden kann. An einer andern Stelle würde ich vielleicht eine andere Lösung für günstiger halten, jedenfalls findet man immer eine den örtlichen Verhältnissen entsprechende günstige Anlage, mit der man Vorfiltrat mit natürlichem Gefälle, also ohne Kosten, auf ein anderes Filter, das als Nachfilter dienen soll, transportiren kann.[1]) Mit den geringen Aenderungen, durch das Einbauen weniger Rohrleitungen verleiht man dem früher so schwerfälligen Apparat grosse Anpassungsfähigkeit, gewissermaassen Beweglichkeit. Zu kritischen Zeiten kann man immer die schwächeren Filter den ersten Anprall mit dem beruhigenden Bewusstsein aufnehmen lassen, dass die besseren Filter, die im Augenblick der Gefahr als Nachfilter umgeschaltet wurden, mit Zuverlässigkeit alles leisten, was man von ihnen verlangt. Welche Genugthuung bietet die Arbeit mit der facultativen Doppelfiltration, bei der man die gewonnenen Erfahrungen wirklich nutzbringend verwerthen kann, im Gegensatz zur einfachen Filtration, bei der die Erfahrung nur nachweist, dass dann und wann schlechte Ergebnisse erlangt werden, aber »unabwendbar«.

Durch den Wechselbetrieb der Filter als einfache, Vor- und Nachfilter und dadurch, dass das Wasser mit natürlichem Gefälle auf die Nachfilter fliesst, entstehen recht beträchtliche Ersparnisse im Betrieb. Ich führe die in Bremen erzielten auf, wennschon

1) Am einfachsten gestaltet sich die Anlage bei Werken für Enteisenung von Grundwasser, denen Nachfiltration nach Auffüllungen und Reinigungen zwar nicht aus hygienischen Gründen, aber sonst sehr nützlich ist.

die Vortheile des Systems auch ohne das bedeutend genug sind, dass man diesen in »baar« zu berechnenden Erfolg missen könnte. Das Bremer Wasserwerk, dem die Einrichtung für Doppelfiltration 5000 Mark kostete, hat durch die Doppelfiltration gegen das Jahr 1893/94 gespart:

Im Jahre 1895/96 während der definitiven Einführung 6 500 Mark
» » 1896/97 nach der Einführung . . . . . 19 000 »
» » 1897/98 » » » . . . . . . 14 000 »

bei jährlichen Wasserabgaben von 4,6; 4,9 und 5,3 Mill. cbm, das sind in Procenten der sonst nöthigen Betriebsausgaben für Pump- und Filtrirbetrieb:

Im Jahre der Einführung 1895/96 . . 7,5%
Im Jahre nach der Einführung 1896/97 . 20 »
» » » » » 1897/98 . 14 ».

Es erübrigen nur noch wenige Worte über die erforderliche Grösse der Filterfläche im Anschluss an die oben gemachte Angabe, dass Bremen die Doppelfiltration mit genau der gleich grossen Filterfläche durchführt, wie sie für die Einfachfiltration berechnet ist.

Für die einfache Filtration muss die Filterfläche mit der für zulässig erachteten Filtergeschwindigkeit (meist 100 mm pro Stunde) für die stärkste, gewöhnlich im Sommer auftretende Wasserabgabe pro 24 Stunden berechnet werden. Zu der ausgerechneten Fläche treten als Reserve, je nach der Häufigkeit der bei stärkster Wasserabgabe nöthigen Reinigungen, zwei oder mehr Filter von gleicher Grösse wie die Einzelfilter. Die für Einarbeiten der Filter nothwendige Zeit ist dabei zu berücksichtigen.

Will man nach meinem System Doppelfiltration lediglich nach Reinigungen und Auffüllungen anwenden, was in vielen Fällen genügen wird, so ist die nothwendige Filterfläche genau die gleiche, wie soeben angegeben. Hat man Hochwässer zu verarbeiten, die die Filter so schlimm beeinflussen, dass es nicht genügt, nur die kürzlich gereinigten Filter nachzufiltriren, dass man vielmehr sämmtliches für die Abgabe bestimmtes Wasser doppelt filtrirt wissen will, so hat man nicht nur die im Jahre

vorkommende Maximalabgabe für 24 Stunden für einfache Filtration, sondern auch die Maximalabgabe zur Zeit der Häufigkeit gefährlicher Hochwässer — Frühjahr und Herbst —, die bedeutend kleiner ist als die absolut grösste Abgabe für 24 Stunden, in Betracht zu ziehen, beide Rechnungen auszuführen und die grösste sich ergebende Filterfläche anzulegen. Man braucht für vorübergehende Doppelfiltration keine Reservefilterfläche. Für die Nachfiltration kann man grössere Filtergeschwindigkeit anwenden. Auf keinen Fall kommt man dabei zur doppelten sonst nöthigen Filterfläche, vielmehr wird man allgemein, wie Bremen beweist, mit derselben Filterfläche auch für Doppelfiltration bei Hochwasser auskommen. Die Filterfläche, die für Bremen im Jahre 1893 für einfache Filtration für erforderlich erachtet wurde, reicht noch heute — 1899 — reichlich für die facultative Doppelfiltration aus.

Nehmen wir ungünstige Verhältnisse an, so ist das äusserste für Doppelfiltration Aufzuwendende der Bau von 1 bis 2 Filtern mehr, als für einfache Filtration nöthig ist, und die hat man für eine Summe, die vielerorts für zweifelhafte Vorarbeiten für Grundwassergewinnung fortgeworfen wird.

Wir fassen die Haupt-Vortheile des geschilderten Verfahrens für Nachfiltration zusammen und finden:

1. Den directen hygienischen Erfolg beim Nachfilter nach Reinigungen und Sandauffüllungen und bei Hochwasser, bestehend in der Erzeugung von einwandfreiem Filtrat.
2. Den pecuniären Gewinn der nach Reinigungen und Auffüllungen angewendeten Nachfiltration, indem das auf die Höhe der Filter gehobene Wasser, das das Vorfilter zudem mit seinem gröbsten Schlamme belastet hat, nicht unbenutzt abgelassen werden muss, sondern nutzbar gemacht wird.
3. Die Möglichkeit, das erste Filtrat nach Reinigungen länger unbenutzt zu lassen, als wenn man es ablaufen liesse, weil Kosten nicht dadurch entstehen. Lässt man das Filtrat ablaufen, so wird man es, um die Kosten zu sparen, so wenig Zeit ablaufen lassen, als man irgend

verantworten kann. Aus dieser Rücksicht kommen Fälle zu Stande, in denen das Filtrat kaum 24 Stunden abgelassen wird, eine Zeit, die nach einer einfachen Ueberlegung wegen der üblichen geringen Anfangs-Filtergeschwindigkeit kaum genügt, auch nur das von unten in das Filter hineingelassene gute Filtrat wieder abzulassen.

4. Die Möglichkeit, das Filtrat eines Filters, das mitten in der Periode unerwartet eine hohe Keimzahl aufweist, von dem für die Versorgung bestimmten Filtrat abzuschliessen, ohne dass die Filterthätigkeit des verdächtigen Filters gestört oder unterbrochen wird und ohne dass Filtrat abgelassen wird, das inzwischen vielleicht wieder ganz einwandfrei ist.
5. Von zwei Filterwerken, von denen das eine besseres, das andere schlechteres Rohwasser verarbeitet, ist das erstere sicher von Anfang an im Vortheil. Da nun für die Versorgung nur die Filter in Frage kommen, die ihr Wasser direct an den Reinwasserkeller abgeben, so dienen bei der Doppelfiltration die Vorfilter nur dazu, besseres Rohwasser zu erzeugen; das in den Nachfiltern verarbeitete Wasser ist für die Beurtheilung der voraussichtlichen qualitativen Arbeit des Werkes maassgebend. Durch die facultative Doppelfiltration wird die durchschnittliche Qualität des zu Trinkwasser verarbeiteten Rohwassers gehoben.
6. Durch die facultative Nachfiltration, also durch die zeitweilige Verwendung jedes Filters als Nachfilter werden die Filterperioden verlängert. In der Zeit, wo das Filter als Nachfilter dient, verschlammt es nicht, weil der eigentliche Schlamm im Vorfilter bleibt. Da nun jede Reinigung einen schädlichen Eingriff in die Filterthätigkeit bedeutet, so ist die durch Nachfiltration herbeigeführte Verlängerung der Filterperiode, das Hinausschieben der Reinigungen von sehr grossem, unberechenbaren Werth. Infolge der facultativen Nachfiltration verringert sich die Zahl der Gelegenheiten zur Nachfiltration.

Die durchschnittliche Betriebszeit zwischen zwei Reinigungen betrug in Bremen:

Vor Einführung der Doppelfiltration:	1892/93	15 Tage
	1893/94	11 »
	1894/95	15 »
(Im Jahre der Einführung der Doppelfiltr.:	1895/96	27 »)
Nach Einführung der Doppelfiltration:	1896/97	35 »
	1897/98	34 »

Die durchschnittliche Betriebszeit der Filter nahm also infolge der Doppelfiltration um ca. 150 bis 200% zu, die schädlichen Reinigungen wurden also entsprechend weniger, die früher jährlich nothwendigen Auffüllungen sind nur noch alle 2 bis 3 Jahre nöthig: das sind hygienische Vortheile von ganz enormer Tragweite.

Nach diesen Betrachtungen mehr allgemeiner Art will ich noch einen concreten Fall darstellen, wie er sich jüngst in dem Bremer Betriebe abspielte. Es handelt sich um Doppelfiltration sämmtlichen an die Stadt abgegebenen Wassers. Dass es weit schwieriger ist, hierbei vollen Erfolg zu erzielen, als in den vereinzelten Fällen einer Filterreinigung oder Sandauffüllung, wird ja keines Beweises bedürfen: wenn die unvollkommene Arbeit eines Vorfilters an seinem ungenügenden Zustand liegt, während alle anderen Filter das Rohwasser einwandfrei verarbeiten, so wird das zu jenem Vorfilter gehörige Nachfilter das minderwerthige Vorfiltrat selbstverständlich gut verarbeiten können.

Viel schwieriger ist die Lage, wenn das Rohwasser so schlechte Beschaffenheit hat, dass alle Filter ohne einen anderen Grund Leistungen aufweisen, die unter den gewohnten stehen. Mitte December 1898 filtrirte das Filterwerk Rohwasser mit zwischen 1000 und 2000 Keimen im Cubikcentimeter mit dem üblichen, zweifellos guten Erfolge. Nachdem in der zweiten Hälfte des Monats einige Tage mit reichlichen Niederschlägen zu verzeichnen gewesen, ging der Klarheitsgrad des Rohwassers am 22. XII. 98 vormittags von den 43 cm des Vortages auf 18 herab, das Weserwasser nahm hochwasserartigen Charakter an, obwohl der Wasserstand des Flusses *fallende, nicht steigende*

Tendenz hatte. Das schroffe Abfallen des Klarheitsgrades war genug warnendes Anzeichen für hohen Keimgehalt des Rohwassers. Deshalb wurden die Filter 1, 2, 4, 6, 8 und 12 zu Nachfiltern bestimmt, ihr Rohwasserzulauf also zugesperrt, damit ihr Wasserspiegel sich soweit absenkte, wie wegen der Druckhöhe des vorgesehenen Vorfilters und wegen des Gefälleverlustes des Hebers nöthig war. Dann wurden die Heber angesaugt und das Filtrat der zu Vorfiltern bestimmten Filter lief nach Absperren der in Frage kommenden Schieber nicht mehr in den Reinwasserkeller, sondern in den Rohwasserraum des zugehörigen Nachfilters, ohne dass an den Filtergeschwindigkeiten der Filter sich durch das Umstellen irgend etwas änderte. Nach dem Umstellen mussten natürlich die Filtergeschwindigkeiten der Nachfilter erhöht werden, was, wie üblich, ganz langsam ausgeführt wurde.

Die Nothwendigkeit dieser Maassregel und ihren Erfolg zeigen die Tabellen III bis V und das Diagramm.

Tabelle III.

Klarheitsgrade des Rohwassers bei der hochwasserartigen Aenderung Ende December 1898 bis Anfang Januar 1899.

Tag der Untersuchung	Klarheitsgrad des Rohwassers	
	vor der Klärung	nach der Klärung
11. XII. 1898	50	54
12. XII. 1898	52	65
13. XII. 1898	52	64
14. XII. 1898	52	60
15. XII. 1898	45	60
16. XII. 1898	45	60
17. XII. 1898	48	58
18. XII. 1898	47	53
19. XII. 1898	38	53
20. XII. 1898	40	58
21. XII. 1898	43	56
22. XII. 1898 vormittags . .	18	40

Das Werk wurde am 22. mittags für Doppelfiltration umgestellt.

Tag der Untersuchung	Klarheitsgrad des Rohwassers	
	vor der Klärung	nach der Klärung
22. XII. 1898 nachmittags . .	14	26
23. XII. 1898 vormittags . .	11	25
nachmittags . .	11	20
24. XII. 1898 vormittags . .	12	19
nachmittags . .	16	21
25. XII. 1898 vormittags . .	20	25
nachmittags . .	21	27
26. XII. 1898 vormittags . .	23	28
nachmittags . .	22	27
27. XII. 1898 vormittags . .	26	27
nachmittags . .	24	27
28. XII. 1898	30	37
29. XII. 1898	31	41
30. XII. 1898	33	41
Die Doppelfiltration wurde unterbrochen.		
31. XII. 1898	41	60
1. I. 1899	50	62
2. I. 1899	44	53
3. I. 1899	43	50
4. I. 1899	37	61
5. I. 1899	31	55

Tabelle IV.

Bacterien im Cubikcentimeter des Rohwassers bei der hochwasserartigen Aenderung Ende December 1898 bis Anfang Januar 1899.

Tag der Probeentnahme und Untersuchungsstelle	Bacterien im Cubikcentimeter des Rohwassers	
	vor der Klärung	nach der Klärung
12. XII. 1898 Wasserwerk	1 625	2 000
15. XII. 1898 Bacteriologisches Institut	1 680	1 180
19. XII. 1898 Wasserwerk	6 750	3 000
22. XII. 1898 Bacteriologisches Institut	41 600	11 320
23. XII. 1898 Wasserwerk	23 400	18 000
24. XII. 1898 Wasserwerk	16 300	14 900
26. XII. 1898 Wasserwerk	16 200	10 900
27. XII. 1898 Wasserwerk	7 400	3 400
29. XII. 1898 Bacteriologisches Institut	12 960	9 600
30. XII. 1898 Wasserwerk	4 250	4 800
2. I. 1899 Wasserwerk	7 040	4 340
5. I. 1899 Bacteriologisches Institut	5 920	4 320

Tabelle V.

Bacterien in Cubikcentimeter des Filtrats bei der hochwasserartigen Aenderung Ende December 1898 bis Anfangs Januar 1899.

Tag der Probeentnahme und Untersuchungsstelle	Bacterien im Cubikcentimeter des Filtrats der Filter Nr.												Mittel sämmtlich. Filter
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Allgemeine einfache Filtration.													
12. XII. 1898 Wasserwerk	49	11	59	50	50	15	18	93	22	11	15	5	**32**
15. XII. 1898 Bact. Inst.	45	14	56	42	28	23	16	70	23	18	22	9	**30**
19. XII. 1898 Wasserwerk	39	18	114	47	Reinig.	25	19	82	36	10	17	42	**39**

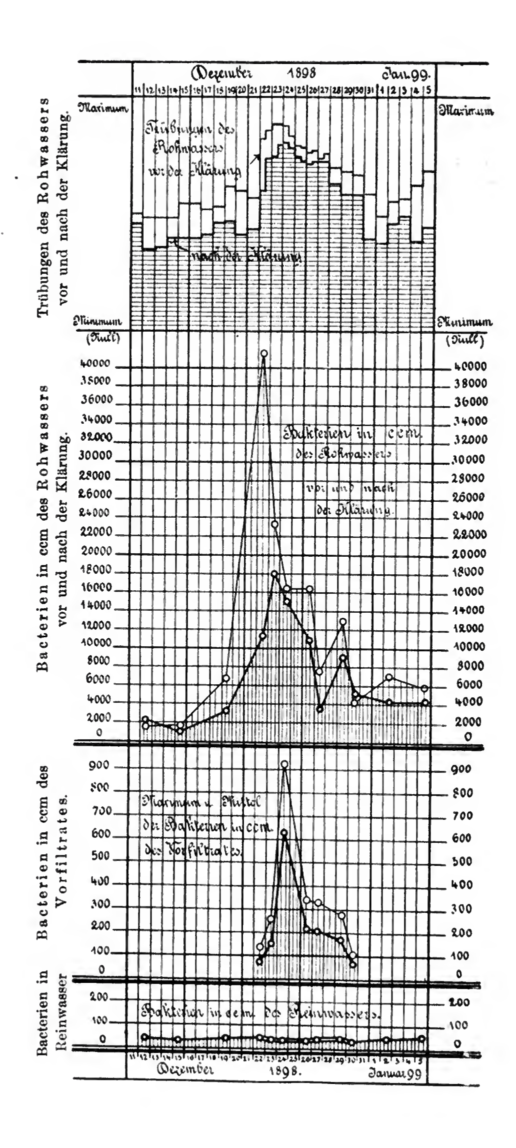
Am 22. XII. Umstellung zur Doppelfiltration.

	Bacterien im Cubikcentimeter des Vorfiltrats der Filter Nr.						Mittel der Vorfilter
	3	5	7	9	10	11	
22. XII. 1898 Bact. Inst.	132	**136**	27	94	17	27	**69**
23. XII. 1898 Wasserwerk	155	175	45	**255**	70	155	**149**
24. XII. 1898 Wasserwerk	225	765	310	**925**	—	620	**630**
26. XII. 1898 Wasserwerk	230	290	110	**335**	115	165	**214**
27. XII. 1898 Wasserwerk	**330**	235	—	255	100	130	**203**
29. XII. 1898 Bact. Inst.	93	**276**	44	244	130	148	**166**
30. XII. 1898 Wasserwerk	94	86	9	**108**	40	38	**63**

	Bacterien im Cubikcentimeter des Nachfiltrats der Filter Nr.						Mittel der Nachfilter
	1	2	4	6	8	12	
22. XII. 1898 Bact. Inst.	26	22	88	192	37	6	**48**
23. XII. 1898 Wasserwerk	34	14	66	32	47	17	**37**
24. XII. 1898 Wasserwerk	21	12	31	40	64	21	**34**
26. XII. 1898 Wasserwerk	28	24	75	13	—	22	**33**
27. XII. 1898 Wasserwerk	28	12	75	19	86	9	**41**
29. XII. 1898 Bact. Inst.	27	16	14	42	—	35	**40**
30. XII. 1898 Wasserwerk	17	13	50	13	58	13	**30**

Am 31. XII. Umstellung zur allgemeinen einfachen Filtration.

	Bacterien im Cubikcentimeter des Filtrats der Filter Nr.												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
2. I. 1899 Wasserwerk .	28	6	101	40	43	21	Vorfilter	82	Vorfilter	32	26	29	**44**
5. I. 1899 Bact. Institut	22	—	56	134	60	21	14	90	68	Vorfilter	14	Reinig	**45**



Trübungen des Rohwassers vor und nach der Klärung.
Dezember 1898
Jan. 99.
Maximum
Trübungen des Rohwassers vor der Klärung
nach der Klärung
Minimum (Null)
Bacterien in ccm des Rohwassers vor und nach der Klärung.
Bakterien in ccm des Rohwassers vor und nach der Klärung.
Bacterien in ccm des Vorfiltrates.
Maximum u. Mittel der Bakterien in ccm des Vorfiltrates.
Bacterien in Reinwasser
Bakterien in ccm des Reinwassers.
Dezember 1898.
Januar 99

Der Klarheitsgrad des Rohwassers fiel noch am Nachmittag desselben Tages auf 14, am folgenden Tage auf 11 und entsprechend stieg die Keimzahl des Rohwassers von 6750 am 19. December, auf 41 600 am 22. December.

Sämmtliche Vorfilter weisen hohe Zahlen auf bis zu 925 Bacterien im Cubiccentimeter und 630 im Mittel. Das wären die Keimzahlen des an die Stadt abzugebenden Reinwassers bei Einfachfiltration gewesen.

In Wirklichkeit ging die Keimsteigerung des Rohwassers am Reinwasser spurlos vorüber. Die Vorfilter nahmen den »Stoss« auf wie »Puffer«, infolge ihrer Zwischenschaltung ist der Keimgehalt des Reinwassers vor der Keimsteigerung, während der Steigerung und danach ganz gleichmässig derselbe zwischen etwa 30 und 50, was man praktisch als constant bezeichnen muss.

Das Diagramm dürfte deutlich genug sein. Ich hebe nur hervor, dass ich, wie auch früher, Doppelfiltrat durch Doppellinie, Einfachfiltrat durch Einfachlinie dargestellt habe. Interessant ist im Diagramm der Parallelismus zwischen Trübungen und Bacterien des Rohwassers, der Parallelismus zwischen Bacterien des Rohwassers und Bacterien des Vorfiltrates und die absolute Unabhängigkeit des als einwandfrei in den Reinwasserkeller abgelassenen Filtrates, die durch den schon oben hervorgehobenen Parallelismus zur Nulllinie gekennzeichnet ist.

Ich nehme an, dass das wiedergegebene Material noch besondern Werth dadurch hat, dass die bacteriologischen Untersuchungen, wie in den Tabellen angegeben, abwechselnd vom bacteriologischen Institut Bremen und vom Wasserwerk stammen und ich verfehle nicht, dem Director des bacteriologischen Instituts, Herrn Dr. med. Kurth, auch an dieser Stelle meinen besten Dank für die Erlaubnis auszusprechen, auch die von ihm gewonnenen Resultate hier veröffentlichen zu dürfen.

Ueber die Bacterien in besprengtem und nichtbesprengtem Strassenstaub.

Von

Dr. **Teïsi Mazuschita.**

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B.)

Die Entscheidung der Frage, ob im gesundheitlichen Interesse im Sommer die Strassen der Städte besprengt werden sollen oder nicht, gewinnt mehr und mehr an Bedeutung und ist bisher noch nicht völlig entschieden.

Der Zweck einer Strassenbesprengung während der heissen Jahreszeit ist der, dass man den lästigen und bedingungsweise gesundheitsschädlichen Staub zu beseitigen oder wenigstens durch die Befeuchtung zu fixiren wünscht, und dass ausserdem durch die Verdunstung des versprengten Wassers ein höherer Feuchtigkeitsgehalt der Luft und eine, wenn auch nur mässige Abkühlung derselben erhofft wird.

Demgegenüber kann vom bacteriologischen Standpunkt aus der Einwand gemacht werden, dass die durch das Sonnenlicht und das Austrocknen dem Untergang entgegengehenden niederen Organismen durch das Besprengen mit Wasser neue Lebenskraft erhalten, dem Absterben entgehen und sich sogar vermehren könnten.

Damit wäre dann der zu beseitigende sanitäre Missstand, nämlich die Zerstörung der gesundheitsschädlichen Eigenschaften des Strassenstaubes nicht erreicht, sondern im Gegentheil würden gerade diejenigen Bestandtheile des Strassenstaubes, welche man

in erster Linie zu beseitigen hätte, in ihrer Existenz noch begünstigt und direct vermehrt.

Es wird ferner die häufig zu beobachtende Thatsache hervorgehoben, dass durch das Besprengen der Strassen zunächst mächtige Staubwolken emporgewirbelt werden, und dass dadurch der sonst am Boden liegende Staub mit den Athmungsorganen der Vorübergehenden in Berührung gebracht wird. Andererseits kann sich wohl Niemand des wohlthuenden Eindrucks erwehren, welchen man zur heissen, trockenen Jahreszeit beim Ueberschreiten einer kurz zuvor gut besprengten Strasse empfindet, und ist es ja auch keineswegs zu leugnen, dass, solange der Strassendamm wirklich nass bleibt, die Luft in der betreffenden Gegend zweifellos reiner und auch rücksichtlich der übrigen physikalischen Factoren gesundheitlich zuträglicher ist, als die trockene, staubige, überhitzte Luft der nicht besprengten Strassen.

Um die Frage nach ihrer bacteriologischen Seite hin ihrer Lösung näher zu bringen, benutzte ich daher mit Interesse die mir im hygienischen Institut der Universität Freiburg gebotene Gelegenheit, bacteriologische Untersuchungen anzustellen über den Keimgehalt besprengter und nicht besprengter Strassen.

Durch die Lage des hygienischen Instituts an der Grenze der inneren Stadt wurden gerade diese Untersuchungen erleichtert, indem die regelmässig besprengte Strassenzone mit den südlich vom Institut gelegenen Strassenzügen etwa abschliesst, und die nördlich des Instituts gelegenen Strassen für gewöhnlich nicht besprengt werden. Es konnten mithin zu den jeweils anzustellenden Untersuchungen unter sonst ganz gleichen äusseren Bedingungen die verschiedenen Sorten des Strassenstaubes gesammelt werden und wurden dieselben demnächst unter ganz gleichmässigen Bedingungen einer genauen quantitativen und qualitativen bacteriologischen Untersuchung unterzogen.

Es möge mir gestattet sein, im Folgenden zunächst die Untersuchungsmethode, hierauf die Resultate der einzelnen Untersuchungen anzuführen und im Anschluss daran in einem besonderen Abschnitt die bis jetzt noch nicht beschriebenen, bei den

Untersuchungen gefundenen neuen Arten zu schildern; hierauf möge eine tabellarische Uebersicht über die Anzahl, sowie die verschiedenen Arten der bei den Untersuchungen gefundenen Bacterien folgen, und zum Schlusse sollen die aus derselben ersichtlichen Resultate zusammengefasst und aus diesen die praktisch wichtigen Schlüsse gezogen werden.

I. Untersuchungsmethode.

Ich brachte 1 oder $^1/_2$ g frisch entnommenen Staubes in einen mit 1 l sterilisirten Wassers gefüllten Glaskolben und entnahm mit einer sterilisirten Pipette nach sorgfältigem Schütteln der Mischung 1, $^1/_2$, $^1/_4$ und $^1/_8$ ccm, die ich verflüssigter, sterilisirter, in Reagenzgläschen abgefüllter Nährgelatine zusetzte.

Hiervon goss ich Platten, auf denen sich nach 2 bis 3 Tagen Colonien entwickelten, die ich mit blossem Auge und mikroskopisch untersuchte und auf verschiedene Nährböden, sowie Mäuse und Meerschweinchen überimpfte; die Züchtung erfolgte stets bei Luftzutritt und Zimmertemperatur. Bei allen Untersuchungen fanden sich die gewöhnlichen Schimmelpilze und Hefearten und sind dieselben daher nicht mehr besonders erwähnt (cf. Abschnitt IV in Tabelle V).

II. Resultate der einzelnen Untersuchungen.

I. Untersuchung von besprengtem Staub aus der Albertstrasse; 27. Juni 1898.

Nachdem es 2 Tage vorher zuweilen geregnet hatte, trat am Tage der Untersuchung schönes Wetter ein, sodass ich den Staub dem im Sonnenschein nach 4 Stunden ziemlich gut getrockneten Boden entnehmen konnte.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,001 g	1981
2.	0,0005 »	1031
3.	0,00025 »	627
4.	0,000125 »	154.

B. Bacterienarten.

Nach der oben angegebenen Methode fand ich folgende 25 Bacterienarten:

1. Micrococcus candicans, 2. M. Cuteus, 3. Porzellancoccus, 4. M. coronatus, 5. M. viticulosus, 6. Staphylococcus cereus albus, 7. M. candidus, 8. M. rosettaceus, 9. M. sulfureus, 10. M. rubefaciens (vgl. III. Abschnitt), 11. Staphylococcus pyogenes citreus, 12. Bacillus mycoides (Wurzelbacillus).

Ueber die Eigenbewegung des Wurzelbacillus sind die Ansichten der Autoren verschieden, indem die einen deutliche Eigenbewegung angeben, während dieselbe nach anderen Autoren fehlt.

Ich selbst beobachtete keine Eigenbewegung.

13. B. erythrogenes, 14. B. ochroceus, 14. R. helvolus, 16. B. disciformans, 17. Gelber Bacillus, 18. B. fulvus, 19. B. arborosceus, 20. B. aërophilus, 21. B. nubilus, 22. B. turcosa, 23. B. aquatilis.

24. B. pyocyaneus. Nach Lehmann soll der B. pyocyaneus sich nach Gram färben und Milch coaguliren, während der B. fluorescens weder die Gram'sche Färbung annimmt, noch Milch zur Gerinnung bringt.

Meine Untersuchungen weichen hiervon ab, stimmen dagegen mit denjenigen Flügge's und Günther's sowie Růžičkas*) überein, nach welchen Autoren beide Bacillen sich nach Gram entfärben und Milch nicht coaguliren.

Der Nachweis des Bacillus pyocyaneus gelang bisher bestimmt nur im Organismus, während er ausserhalb desselben noch nicht gefunden worden sein soll.

25. Theebraunfarbener Bacillus (vgl. III. Abschnitt).

II. Untersuchung von nichtbesprengtem Staub aus der Lehenerstrasse; 13. Juli 1898.

Wetterbericht:

Am 10. Juli schönes Wetter,
» 11. » andauernder Regen,
» 12. » bedeckter Himmel ohne Regen,
» 13. » Sonnenschein.

Am 13. Juli nachmittags 2 Uhr wurde der im Sonnenschein vollständig getrockneten Strasse der Staub entnommen.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,001 g	2363
2.	0,00025 »	207
3.	0,000125 »	133
4.	0,0000625 »	125.

*) Archiv für Hygiene, Bd. 34, S. 149, 1898.

B. Bacterien.

Bei den Untersuchungen fanden sich folgende 13 Arten:

1. M. candicans, 2. M. coronatus, 3. M. rosettaceus, 4. M. concentricus, 5. M. radiatus, 6. M. crêmoides, 7. B. mycoides, 8. B. subtilis (Heubacillus), 9. B. mesentericus vulgatus (Kartoffelbacillus), 10. B. implexus, 11. B. mucosus, 12. B. lactis albus, 13. B. megatherium simulans (vgl. III. Abschnitt).

III. Untersuchung von besprengtem Staub aus der Bismarckstrasse; 18. Juli 1898.

Am 13. Juli abends Regen; vom 14. bis zum 18. Juli trockenes, warmes Wetter.

Am 18. Juli wurde der Staub in der Bismarckstrasse geholt und untersucht.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1. und 4. wurden durch die Wärme verflüssigt.		
2.	0,00025 g	12
3.	0,000125 »	8.

B. Bacterien.

Im Ganzen fand ich bei dieser Untersuchung nur folgende 5 Arten:

1. M. crêmoides, 2. M. rosettaceus, 3. M. coralloides, 4. Staphylococcus pyogenes albus, 4. Proteus mirabilis.

IV. Untersuchung von nichtbesprengtem Staub, der von dem Verbindungswege zwischen Hebel- und Albertstrasse stammt; 18. Juli 1898.

Der Weg liegt zwischen dem 2 m breiten Gewerbekanal und einer Wiese, sodass er wegen der aufsteigenden Wasserdünste nie so trocken wird, wie die Strassen der Stadt; besprengt wird er überhaupt nicht.

Betreffs des sonstigen Wetterzustandes vgl. III. Untersuchung.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,0005 g	139
2.	0,00025 »	47
3.	0,000125 »	14.
4. wurde durch die Wärme verflüssigt.		

B. Bacterienarten.

1. Staphylococcus pyogenes albus, 2. B. subtilis, 3. Kartoffelbacillus, 4. Wurzelbacillus, 5. B. nubilis, 6. B. vermicularis, 7. B. liquidus, 8. B. megatherius, 9. B. vulgaris Hauser, 10. B. albus liquefaciens (vgl. III. Abschnitt).

V. Untersuchung von unbesprengtem Staub aus der Albertstrasse; 3. August 1898.

Am 30. Juli Gewitter,
» 31. » bedeckter Himmel,
» 1. bis 3. August Sonnenschein.

Um $^1/_2$3 Uhr wurde der Staub von einem Theil der Albertstrasse geholt, der niemals besprengt wird.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,001 g	2091
2.	0,0005 »	931
3.	0,00025 »	369
4.	0,000125 »	278
5.	0,0000625 »	92.

B. Bacterienarten.

1. M. candicans, 2. M. concentricus, 3. M. candidus, 4. M. rosettaceus, 5. M. sulfureus, 6. M. viticulosus, 7. Staphylococcus pyogenes aureus, 8. Streptococcus cinereus, 9. Oospora chromogenes, 10. B. subtilis, 11. B. mesentericus vulgatus, 12. B. ochroceus, 13. B. aquatilis, 14. B. pyocyaneus, 15. Der gelbe Bacillus, 16. B. crêmoides, 17. B. candicans, 18. B. aureus liquefaciens (vgl. III. Abschnitt), 9. B. putuitosus (vgl. III. Abschnitt).

VI. Untersuchung von besprengtem Staub aus der Bismarckstrasse; 3. August 1898.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,0005 g	725
2.	0,00025 »	481
3.	0,000125 »	322
4.	0,0000625 »	181.

B. Bacterienarten.

1 M. candicans, 2. M. cereus albus, 3. M. concentricus, 4. M. radiatus, 5. M. rosettaceus, 6. Porzellancoccus, 7. Staph. pyogenes aureus, 8. M. roseus, 9. M. citreus liquefaciens, 10. Heubacillus, 11. Wurzelbacillus. 12. Kartoffelbacillus, 13. B. nubilus, 14 B. erythrogenes, 15. B. aquatilis, 16. B. aërophilus, 17. B. implexus.

VII. Untersuchung von besprengtem Staub aus der Rheinstrasse; 13. August 1898.

Am 6. August schönes Wetter,
» 7. » Regen,
» 8. bis 13. August stets schönes, trockenes Wetter.

Am 13. August Untersuchung des aus der Rhein- und Sautierstrasse stammenden Staubes.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1. 2.	wurden durch die hohe Zimmertemperatur verflüssigt.	
3.	0,000125 g	29
4.	0,0000625 »	8.

B. Bacterienarten.

1. M. candicans, 2. M. concentricus, 3. B. aërophilus simulans, 4. B. subtilis, 5. B. cuticularis.

Tils hat den Bacillus cuticularis schon im Wasser gefunden. Nach demselben Autor hat er nur geringe Eigenbewegung, während ich ihn sehr lebhaft eigenbeweglich fand.

VIII. Untersuchung von nichtbesprengtem Staub aus der Sautierstrasse; 13. August 1898.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,0005 g	76
2.	0,00025 »	38
3.	0,000125 »	7
4.	0,0000625 »	5.

B. Bacterienarten.

1. M. candicans, 2. Staph. pyogenes albus, 3. Heubacillus, 4. Wurzelbacillus, 5. Kartoffelbacillus, 6. B. aquatilis, 7. B. candicans, 8. B. megatherium, 9. B. albus, 10. B. radiatus aquatilis.

Nach Zimmermann besitzt der Bacillus radiatus aquatilis geringe Eigenbewegung, während ihm dieselbe nach Flügge fehlt; ich fand bei ihm nur Molecularbewegung; derselbe wurde schon im Wasser nachgewiesen.

11. B. citreus, 12. B. ramosus liquefaciens.

Von Prausnitz wurde dieser B. ramosus liquefaciens als Verunreinigung gefunden, jedoch nicht genauer untersucht.

Es seien daher seine Eigenschaften in Folgendem beschrieben:

Ziemlich grosse, leicht gekrümmte, an den Enden abgerundete, aërobe Bacillen mit granulirtem Zellinhalt; sie sind $1^1/_2$ bis 2mal so lang als breit, wachsen zu ziemlich langen Fäden aus, bilden Sporen, besitzen langsame Eigenbewegung und färben sich gut oder mangelhaft nach Gram.

Sowohl bei 35° C. als bei Zimmertemperatur ziemlich üppiges Wachsthum.

Auf der Gelatineplatte nach 20 Stunden bei schwacher Vergrösserung landkartenartige, gelblichweisse Colonien mit haarlockenartiger Zeichnung, welche die Gelatine nicht verflüssigen; nach 2 Tagen 1,5 mm grosse, weissliche, die Gelatine verflüssigende Colonien, die bei schwacher Vergrösserung eine landkartenförmige Gestalt zeigen, in der Mitte gelblich und am Rande helldurchsichtig aussehen; nach 3 Tagen schon 3 bis 5 mm grosse Colonien, die bei schwacher Vergrösserung in der Mitte aus einer grünlich gefärbten, undurchsichtigen, wolkigen Bacterienmasse bestehen, während der Rand helldurchsichtig ist und deutliche Vereinigung der Bacterien zu Fäden erkennen lässt; der Rand der Gelatineverflüssigungszone ist rund.

In der Gelatinestichcultur nach einem Tage sehr kleine, nach 3 Tagen 7 mm grosse Colonien, welche die Gelatine trichterförmig verflüssigen, nach 5 Tagen einen Durchmesser von 12 mm erreichen und nach 8 bis 10 Tagen die Gelatine bis zur Glaswand verflüssigen, wobei sich ein weisses Häutchen und weisser Bodensatz bildet. Im Stichkanal Bildung von nach der Tiefe hin immer kürzer werdenden, nach allen Seiten gerichteten Strahlen.

In Glycerinagarstichcultur nach 2 Tagen saftig glänzender, glatter rundlicher, weisser Belag mit wenigen Strahlen im Stichkanal.

Auf Glycerinagarstrichcultur bei Zimmertemperatur nach 2 Tagen 2 bis 4 mm breiter, dünner, saftiger, weisslicher Belag mit sehr zackigem Rand; Condenswasser klar mit weissem Bodensatz; bei 35° C. nach einem Tage über die ganze Fläche ausgedehnter Belag.

Bouillon, besonders in der obersten Schicht, wenig getrübt mit geringem Bodensatz; Indolbildung vorhanden.

Traubenzuckerbouillon verhält sich wie einfache Bouilloncultur; keine Gas- und Schwefelwasserstoffbildung.

Auf Kartoffeln dünne, saftige, glänzende, ziemlich ausgebreitete, gelbliche Auflagerung nebst brauner Verfärbung des Nährbodens.

Blutserumstrichcultur wird nach 4 Tagen mässig verflüssigt.

Milch wird nach 8 Tagen fest coagulirt; Reaction sauer.

Die Gelatinestichcultur des B. ramosus liquefaciens besitzt mit der des B. mycoides einige Aehnlichkoit, während die Agarstrichculturen beider verschieden sind.

IX. Untersuchung von unbesprengtem Staub aus der Sautierstrasse; 18. August 1898.

Vom 8. bis 18. August stets schönes Wetter; am 18. wurde der von der Sautier- und Hebelstrasse stammende Staub untersucht.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,0005 g	43
2.	0,00025 »	19
3. durch die Wärme verflüssigt.		
4.	0,0000625 »	3.

B. Bacterien.

Bei dieser Untersuchung fand ich 11 verschiedene Arten:

1. M. candicans, 2. M. coronatus, 3. M. rosettaceus, 4. B. mycoides, 5. B. mesentericus vulgatus, 6. B. implexus, 7. B. pyocyaneus, 8. B. diffusus, 9. B. fluorescens liquefaciens.

X. Untersuchung von besprengtem Staub aus der Hebelstrasse; 18. August 1898.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,0005 g	153
2. 3.	durch die Wärme verflüssigt,	
4.	0,0000625 g	16.

B. Bacterienarten.

1. M. candicans, 2. M. luteus, 3. B. diffusus.

Da die Nährböden durch Schimmelpilze verunreinigt wurden, gelang es nur diese 3 Arten in Reincultur zu züchten.

XI. Untersuchung von besprengtem Staub aus der Johanniterstrasse; 23. August 1898.

Vom 8. bis 23. August stets schönes Wetter.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,0005 g	42
2.	0,00025 »	32
3.	0,000125 »	10
4. durch die Wärme verflüssigt.		

B. Bacterienarten.

1. M. candidus, 2. M. coronatus, 3. M. sulphureus, 4. M. rubefaciens, 5. Staph. pyogenes albus, 6. B. subtilis, 7. B. mesentericus vulgatus, 8. B. implexus, 9. B. aërophilus simulans (vgl. III. Abschnitt), 10. B. pseudobutyricus (vgl. III. Abschnitt).

XII. Untersuchung von nichtbesprengtem Staub aus der Bismarckstrasse; 23. August 1898.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0.001 g	33
2.	0,0005 »	22
3.	0,00025 »	12
4.	0,000125 »	3.

B. Bacterienarten.

1. M. candicans, 2. M. rosettaceus, 3. M. sulfureus, 4. Porzellancoccus, 5. Staph. pyogenes aureus, 6. Staph. pyogenes citreus, 7. B. subtilis, 8. B. megatherium, 9. Kartoffelbacillus, 10. B. liquefaciens pathogenes (vgl. III. Abschnitt), 11. Oospora chromogenes.

XIII. Untersuchung von unbesprengtem Staub aus der Sautierstrasse; 27. August 1898.

Am 24. und 25. August je einmal Regen; am 26. August bedeckter Himmel; am 27. schönes Wetter.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,0005 g	215
2.	0,00025 »	153
3.	0,000125 »	72
4.	0,0000625 »	9.

B. Bacterienarten.

1. M. candicans, 2. M. crêmoides, 3. M. coronatus, 4. M. cereus albus, 5. M. albus liquefaciens, 6. Diplococcus citreus conglomeratus, 7. Staph. pyogenes albus, 8. Staph. pyogenes aureus, 9. B. subtilis, 10. B. citreus, 11. B. ochraceus, 12. B. radiatus aquatilis, 13. B. dendrificans.

XIV. Untersuchung von besprengtem Staub aus der Katharinenstrasse; 27. August 1898.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1. durch die Wärme verflüssigt,		
3.	0,00025 g	991
2.	0,000125 »	598
4.	0,0000625 »	334.

B. Bacterienarten.

1. M. candicans, 2. M. coronatus, 3. M. rosettaceus, 4. M. rubefaciens, 5. Staph. pyogenes albus, 6. Kartoffelbacillus, 7. B. candicans, 8. B. liquidus, 9. B. ramosus liquefaciens, 10. B. stellatus.

XV. Untersuchung von nichtbesprengtem Staub des Mittelweges; 6. September 1898.

Am 28. und 30. August bedeckter Himmel; am 29. und 31. August Regen: vom 1. bis 6. September schönes Wetter.

Am 6. September nachmittags 2 Uhr begann die Untersuchung des Staubes aus dem Mittelweg und der Johanniterstrasse.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,0005 g	30
2.	0,00025 »	21
3.	0,000125 »	18
4.	0,0000625 »	3.

B. Bacterienarten.

1. M. cereus albus, 2. M. crêmoides, 3. M. luteus, 4. M. sulfureus, 5. B. subtilis, 6. B. megatherium, 7. B. mycoides, 8. B. mesentericus vulgatus, 9. B. aquatilis, 10. B. diffusus, 11. B. candicans.

XVI. Untersuchung von besprengtem Staub aus der Johanniterstrasse; 6. September 1898.

A. Anzahl der Colonien.

Nummer der Platte:	Gewichtsmenge des Staubes:	Anzahl der Colonien:
1.	0,0005 g	80
2.	0,00025 »	62
3.	0,000125 »	13
4. durch die Wärme verflüssigt.		

B. Bacterienarten.

1. M. candicans, 2. M. coronatus, 3. M. crêmoides, 4. M. roseus, 5. M. rosettaceus, 6. Staph. pyogenes aureus, 7. subtilis, 8. B. helvolum, 9. B. candicans, 10. B. ramosus liquefaciens, 11. B. diffusus.

III. Neue, bis jetzt noch nicht beschriebene Bacterienarten.

1. M. rubefaciens.

Mittelgrosse, kreisrunde Coccen, die einzeln oder zu 2 bis 4 Glieder vereinigt, öfters Haufen bildend aneinander liegen, sehr lebhafte Molokularbewegung besitzen, und sich mit gewöhnlichen Anilinfarbstoffen, sowie nach Gram gut färben.

Auf der Gelatineplatte nach 2 Tagen rundliche, weissliche 1,2 mm grosse Colonien; bei schwacher Vergrösserung sind dieselben ebenfalls rund, mit gelbem feinkörnigem Inhalt und farblosem hellerem Ring.

Nach drei Tagen sinkt die Gelatine etwas ein und man bemerkt bei schwacher Vergrösserung in der Mitte dunkelgelbe, nach dem Rand hin hellergelbe kleine Körnchen; der Rand selbst ist zackig.

Nach 4 Tagen Bildung 4 mm grosser Colonien mit gelblichem Häutchen, die bei schwacher Vergrösserung gelblich sind und wolkenförmige dunklere Partien zeigen.

In der Gelatinestichcultur nach einem Tage nadelförmiges Wachsthum unter Bildung eines ziemlich dicken, rundlichen, gelben Knöpfchens; nach 30 Stunden sinkt die Gelatine 2,5 mm breit ein; nach 3 Tagen ca. 10 mm breite, tellerförmige Verflüssigung, die nach 5 Tagen bis zur Wand des Reagensgläschens reicht, mässig getrübt ist und ein gelbliches Häutchen sowie Bodensatz besitzt; nach 4 Tagen rothe Verfärbung der Verflüssigungszone, die nach 7 bis 10 Tagen, zumal beim Betrachten gegen einen dunkleren Hintergrund, besonders deutlich hervortritt.

Auf Agarplatte nach 24 Stunden sehr kleine Pünktchen, bei schwacher Vergrösserung rundliche, dunkelgelbe Colonien mit zackigem Rande und krystallartigem Inhalt.

Nach 3 Tagen auf der Oberfläche weisslichgelbe, runde, 0,5 bis 3 mm grosse Colonien, in der Tiefe weisslichgelbe Pünktchen, die bei schwacher Vergrösserung bald rund, bald eiförmig, herzförmig oder längsoval aussehen und eine feinkörnige, in der Mitte dunkelgelbe, nach dem Rande hin hellergelbe Scheibe darstellen; nach 4 Tagen schon 1,0 bis 4,0 mm grosse Colonien.

In Glycerinagarstichcultur üppiger, dicker, gelblicher Belag mit deutlichem Stichkanal.

Auf Agarstrichcultur bei Zimmertemperatur nach 2 Tagen ziemlich ausgebreiteter, saftiger, glänzender Belag mit gelapptem Rande, welcher in der Mitte grünlichgelb, am Rande weisslichgelb gefärbt ist; nach 3 Tagen ziemlich dicker Belag, der in der untersten Partie die ganze Breite der Agaroberfläche einnimmt; der Agarnährboden selbst verfärbt sich roth, bei 35° C. bleibt jedoch die Rothfärbung des Agarnährbodens aus; das Condenswasser ist klar mit weisslich gelbem Bodensatz.

Bouillon anfangs sehr wenig, nach 3 bis 4 Tagen mässig getrübt mit spärlichem weisslichem Bodensatz; Indolreaction deutlich.

Traubenzuckerbouillon nach 7 Tagen mässig getrübt mit weisslichem Bodensatz; keine Gas- und Schwefelwasserstoffbildung.

Auf Kartoffeln saftigglänzende, dicke, grünlichgelbe Auflagerung mit glattem Rande und glatter Oberfläche.

Auf Milch nach 3 Tagen Bildung eines rahmartig gefärbten Häutchens, dessen Rahmfarbe nach 6 Tagen sehr deutlich ist, während die Bodenschicht hellgelb gefärbt ist; nach 10 Tagen schmutziggelbe Peptonisirung der Milch, wobei ein goldgelber Bodensatz entsteht; Reaction alkalisch.

Auf Blutserumstrichcultur anfangs gelber Belag, nach 2 Tagen oberflächliche, nach 7 Tagen ziemlich tiefe, von einem scharfen Rande begrenzte Verflüssigung; Condenswasser getrübt mit weisslichgelbem Bodensatz.

Bei 35° üppigeres Wachsthum als bei Zimmertemperatur.

Für Mäuse ist der Mirococcus nicht pathogen.

Ich züchtete denselben aus besprengtem Staub der Albert-, Johanniter- und Katharinenstrasse.

2. Der theebraunfarbene Bacillus.

Schwach gekrümmtes, kurzes, dünnes, kleines, stets in Einzelexemplaren sichtbares 1,8—3,6 μ langes, 0,6 μ breites, lebhaft eigenbewegliches Stäbchen mit abgerundeten Enden; Eigenbewegung meist gerade ausgerichtet, selten rotirend. Mit allen gewöhnlich gebrauchten Anilinfarben, besonders gut mit Gentianaviolett, sowie nach Gram färbbar.

Auf der 10proc. Gelatineplatte nach einem Tage weissliches Pünktchen; bei schwacher Vergrösserung rundliche, im Innern feinkörnige, gelbe bis hellweisslichgelbe, aus concentrischen Ringen bestehende Scheibe; nach 2 Tagen Verflüssigung der Gelatine.

In der Gelatinestichcultur anfangs fadenförmiges Wachsthum mit weisser Färbung des Stichkanals; nach 20 Stunden trichterförmige Verflüssigung mit weisslichem Bodensatz; nach 2 Tagen Bildung eines schmutzigweissen Häutchens und Klärung der Verflüssigungszone; nach 7 Tagen Verflüssigung der obersten Gelatineschicht bis zur Glaswand; Inhalt später getrübt mit weisslichem Bodensatz; Bildung eines ziemlich dicken, weisslichen Häutchens, die Verflüssigung der Gelatine schreitet nach unten und nach den Seiten hin gleichmässig fort; später tritt vollständige Verflüssigung der Gelatine ein.

Auf Agarplatte nach 1 Tage mit blossem Auge weissliches Pünktchen sichtbar, das bei schwacher Vergrösserung als gelbe, im Inneren faserige Colonie erscheint; nach 2 Tagen an der Oberfläche rundliche, weissliche Colonien von 2 bis 6 mm Durchmesser, die nach 3 Tagen 3 bis 8 mm gross werden, während die tief gelegenen Colonien nur weissliche Pünktchen darstellen.

In Agarstichcultur anfangs fadenförmiges Wachsthum, nach 2 Tagen ziemlich breiter, saftiger, glänzender, rein weisser, dicker Belag; Stichkanal sichtbar; nach einigen Tagen braune Verfärbung des Agars; nach 2 bis 4 Wochen zeigt der Belag auf Agar ziemlich feine Fältelung.

Auf Agarstrichcultur nach 2 Tagen ziemlich breiter, saftiger, glänzender, rein weisser Belag mit fast glattem Rande; nach 3 Tagen reicht der Belag schon bis zur Wand; Condenswasser nach 3 Tagen getrübt mit weissem Bodensatz und weisslichem, dünnem Häutchen.

Agar verfärbt sich bei Zimmertemperatur (ca. 17° C.) nach 5 Tagen; bei Brüttemperatur (37° C.) nach 2 Tagen braun und wird mit der Zeit immer dunkler.

Auf Blutserumstrichcultur anfangs weisslicher Belag; nach 40 Stunden wird dasselbe verflüssigt; Condenswasser schmutzig röthlichgelb getrübt.

Auf Kartoffeln nach 1 Tage saftiger, schmutziger, neapelgelber Belag mit glatter Oberfläche; nach 6 Tagen wird derselbe dick, saftig, glänzend und bräunlich gelb; nach 10 Tagen zeigt die glatte Oberfläche verschiedene Farbenringe:

In der Mitte einen weisslichgelben, von der Mitte nach aussen folgen hierauf ein bräunlicher, grauer und brauner Ring, während der äusserste hellgelb ist.

Milch nach 11 bis 14 Tagen coagulirt; nach 30 Tagen ist das Coagulum noch fest, Reaction sauer.

Bouillon nach 1 Tage wenig getrübt unter Bildung eines zarten, dünnen Häutchens; nach 3 Tagen starke diffuse Trübung, das weissliche dicke Häutchen zeigt an der Oberfläche verdickte Stellen; am Boden weisslicher Satz; Indolreaction deutlich.

Traubenzuckerbouillon nach 7 Tagen stark getrübt mit dickem, weisslichem Bodensatz; keine Gasbildung, reichliche Schwefelwasserstoffbildung.

Bei Bruttemperatur (37 ° C.) besseres Wachsthum als bei Zimmertemperatur.

Für weisse Mäuse ist derselbe nicht pathogen.

Ich fand denselben nur einmal im besprengten Staub aus der Albertstrasse.

Sämmtliche Nährböden nehmen verschieden rasch eine thee- bis kaffeebraune Farbe an, die allmählich immer dunkler wird.

3. B. albus liquefaciens.

Kurzes Stäbchen, isolirt oder zu je 2 Zellen angeordnet; keine Eigenbewegung, dagegen Molecularbewegung; nach Gram färbbar.

Auf der Gelatineplatte nach 3 Tagen auf der Oberfläche weisse, rundliche Colonien, die bei schwacher Vergrösserung eine eiförmige bis stark längsovale Scheibe mit gelbem, körnigem Inhalt darstellen.

In der Gelatinestichcultur anfangs weisse Colonien im Stichkanal; nach 3 bis 5 Tagen tellerförmige Verflüssigung unter Bildung von weissem Bodensatz.

Auf Glycerinagarstrichcultur saftiger, glänzender, reinweisser, ziemlich ausgebreiteter Belag mit glattem Rande, Condenswasser klar mit weissem Bodensatz.

Bouillon wird mässig getrübt mit Bodensatz, ohne Häutchen; Indol vorhanden.

Auf Kartoffeln ziemlich ausgebreiteter, weisser, etwas trockener Belag.

Ich züchtete denselben aus unbesprengtem Staub des Kanalweges.

In der Literatur sind ziemlich viele Bacillen verzeichnet, welche mit dem B. albus liquefaciens Aehnlichkiet besitzen; z. B.:

B. lactis albus
B. diffusus
B. albus putidus
B. carabiformis } mit Eigenbewegung etc.,

B. aquatilis (bildet einen gelben Belag etc.),

B. acidi lactici
B. albus
B. candicans
B. aquatilis sulcatus } diese verflüssigen nicht die Gelatine etc.

4. B. megatherium simulans.

Der Bacillus, welcher dem Heubacillus ähnlich ist, ist ein an den Enden abgerundetes Stäbchen, das, oft zu langen Ketten verbunden, endständige Sporen bildet, langsame Eigenbewegung zeigt und sich nach Gram färbt.

Auf der Gelatineplatte besitzen die Colonien Aehnlichkeit mit denen des B. subtilis; nach einem Tage Bildung 0,3 mm grosser, weisslicher Pünktchen; nach 3 Tagen gelblichweisse, runde bis ovale 0,5 bis 1,5 mm grosse Colonien, die die Gelatine minimal verflüssigen nnd bei schwacher Vergrösserung eine runde bis stark längsovale Form, sowie einen sehr unregelmässig gebuchteten Rand erkennen lassen, während die Farbe der Colonien im Centrum gelb, nach der Peripherie hin grünlichgelb ist, und vom Rande aus radiär in die verflüssigte Gelatine wellenartig gebogene Stäbchenkettchen ausstrahlen.

In der Gelatinestichcultur nach einem Tage Stichkanal weiss gefärbt, nach 2 Tagen geringe Verflüssigung unter Bildung von graulichweissem Bodensatz; nach 4 Tagen 12 mm breite Verflüssigung, die nach 5 Tagen bis zur Glaswand reicht; die Verflüssigung ist anfangs tellerförmig, später cylindrisch; der Inhalt ist fein staubartig getrübt mit weisslichem Bodensatz; keine Häutchenbildung.

Auf Glycerinagarstrichcultur bei Zimmertemperatur nach einem Tage 3 mm breiter grauweisser, saftiger, glattrandiger Belag, der nach 2 Tagen 5 mm breit ist, nach 4 Tagen die ganze Fläche einnimmt, saftig glänzt, ziemlich dick und rein weiss ist, und bisweilen eine gefaltete Oberfläche besitzt; Condenswasser klar mit weissem Häutchen nnd Bodensatz.

Blutserumstrichcultur zeigt nach einem Tage spurweise Verflüssigung, nach 3 Tagen deutlich sichtbare verflüssigte Rinne. Farbe des Belages anfangs undeutlich; nach 4 Tagen am Boden der verflüssigten Rinne eine grauweisse Bacterienmasse. Condenswasser nach 4 Tagen getrübt mit Bodensatz.

Auf Kartoffeln nach 2 Tagen saftige, dicke, graue Auflagerung mit glatter Fläche und glattem Rand; nach 5 Tagen gelblichweisse, nach 10 Tagen gelbe, saftige, in der Mitte einige Körnchen bildende Auflagerung; nach 22 Tagen dicker, trockener, röthlichgelber Belag mit 1 mm grossen Körnern in der Mitte und gelapptem Rand.

Bouillon nach einem Tage fast klar, nach 2 bis 4 Tagen durch kleine Flocken schwach getrübt mit Häutchen nnd Bodensatz; kein Indol, kein SH_2.

Traubenzuckerbouillon nach 7 Tagen schwach getrübt mit reichlichem weissem Bodensatz; keine Gasbildung.

Milch nach 8 bis 10 Tagen bei Zimmertemperatur coagulirt; Reaction sauer.

Bei 35° C. wächst der Belag nach einem Tage über die ganze Oberfläche der Agarstrichcultur, während die Zimmertemperatur (ca. 20° C.) er sich nur 3 mm weit ausbreitet.

Für Mäuse ist derselbe nicht pathogen.

Ich fand denselben in nichtbesprengtem Staub aus der Lehenerstrasse.

Er hat Aehnlichkeit mit dem B. subtilis, besonders mit dem B. megatherium, unterscheidet sich jedoch von diesen dadurch, dass er kein Häutchen auf der Gelatineverflüssigungszone bildet und bei 35° C. besser wächst als bei 20° C.

5. B. pituitosus.

Kurze, dicke, nur selten zu zweien oder mehreren Exemplaren verbundene Stäbchen mit abgerundeten Enden, die lebhafte Eigenbewegung besitzen und sich mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen, sowie nach Gram färben.

Auf der Gelatineplatte nach 3 Tagen an der Oberfläche 1 bis 1,5 mm grosse, weissliche tropfenartige Colonien, die bei schwacher Vergrösserung rundlich sind und grünlichweissen mit weissen Flecken untermischten Inhalt, sowie einen lappigen Rand erkennen lassen.

In der Gelatinestichcultur nach einem Tage saftig glänzender, grauer, runder, nagelförmiger Belag mit deutlich sichtbarem Stichkanal, nach 2 Tagen dicke, mehr tropfenartige, 4 mm grosse, in der Mitte gelbliche, gegen den Rand hin gelblichweisse, glattrandige Auflagerung; nach 4 bis 7 Tagen Verflüssigung, die später cylindrisch wird, wobei sich an der Oberfläche ein glänzendes, hellgelbes, concentrische und dunkelgelbe, irisförmige Linien zeigendes Häutchen bildet, während am Boden ein goldgelber Satz sich niederschlägt; die Verflüssigungszone ist leicht getrübt.

In Glycerinagarsitchcultur saftige, glänzende, grauliche Auflagerung mit deutlichem Stichcanal.

Auf Glycerinagarstrichcultur üppiger, bald über die ganze Fläche ausgebreiteter, saftiger, dicker, schleimig gelber, glattrandiger Belag mit glatter netzförmig gezeichneter Oberfläche; Condenswasser zuerst klar, später getrübt mit Häutchen und Bodensatz.

Auf Blutserumstrichcultur nach 3 Tagen farblose, feuchtglänzende Linien; später sehr langsame Verflüssigung; Condenswasser klar mit gelblich-weissem, dicken Häutchen und gelbem Bodensatz.

Auf Kartoffeln nach einem Tage saftige, dünne, breite, gelbe, nach 3 Tagen bräunlichgelbe Auflagerung, die auch die Kartoffeln braun färbt; nach 4 Tagen röthlichgelbe, bis orangegelbe, saftige breite Auflagerung mit glattem Rand und glatter Oberfläche.

Bouillon nach einem Tage stark getrübt mit Bodensatz; keine Indolbildung.

Traubenzuckerbouillon gleichmässig, stark getrübt mit Häutchen und reichlichem Bodensatz; Gas- und SH_2-Bildung nicht vorhanden.

Milch wird bei 35° C. nach 8 bis 11 Tagen, bei Zimmertemperatur (ca. 18 bis 20° C.) nach 17 Tagen coagulirt; Reaction sauer.

Bei 35° C. wächst der B. pituitosus besser als bei Zimmertemperatur.

Die Beläge auf Agar und Gelatinecultur enthalten sehr zähflüssigen Schleim, so dass das Abimpfen ziemlich schwierig ist. Für Mäuse ist derselbe nicht pathogen.

Ich züchtete denselben nur einmal aus unbesprengtem Staub der Albertstrasse.

6. B. aureus liquefaciens.

Kurze, dünne Stäbchen mit abgerundeten Enden, meist einzeln oder zu zweien auftretend, selten zu langen Fäden verbunden; Eigenbewegung sehr lebhaft: Gram'sche Färbung versagt.

Auf der Gelatineplatte nach einem Tage weisse Pünktchen, die bei schwacher Vergrösserung runde Colonien darstellen, welche gelbe, glänzende Körnchen enthalten; nach 2 Tagen gelbe, bei schwacher Vergrösserung goldgelbe, runde, in der Mitte eine dunkelgelbe Blase enthaltende Colonien.

In der Gelatinestichcultur nach einem Tage graue, flache, nagelförmige, mit zackigem Rande versehene Auflagerung; Stichkanal deutlich sichtbar; die Farbe der Colonien wird allmählich gelb; nach 4 Tagen orangegelber, ziemlich dicker, rosettenförmiger Belag; nach 5 Tagen 6 mm grosse, tellerförmige Verflüssigung mit goldgelbem Häutchen und goldgelbem Bodensatz; später cylindrische Verflüssigung.

In Glycerinagarstichcultur nach einem Tage bei 35° C. dünner, grauer, später sich gelblich verfärbender Belag; Stichkanal deutlich sichtbar.

Auf Glycerinagarstrichcultur nach einem Tage 2 bis 3 mm breiter, grauer, lappiger Belag; nach 4 Tagen über die ganze Oberfläche ausgedehnte, saftige, glänzende, gelblichgraue Auflagernng; Condenswasser klar mit Häutchen und Bodensatz.

Bouillon wird nach einem Tage gleichmässig stark getrübt mit mässigem Bodensatz; nach 2 Tagen dünnes, zartes, gelblichweisses Häutchen sowie reichlicher Bodensatz.

Traubenzuckerbouillon, besonders im offenen Schenkel, stark getrübt mit reichlichem Bodensatz; Indolbildung vorhanden; keine Gas-, keine SH_2-Bildung.

Auf Kartoffeln nach einem Tage saftige, gelblichweisse, nach 2 bis 3 Tagen saftige, röthlichgelbe, breite Auflagerung.

Milch nach 4 Tagen coagulirt mit gelbem Häutchen; nach 3 Wochen nicht verflüssigt; Reaction stark sauer.

Für Mäuse ist der Bacillus nicht pathogen.

Bei 37° C. ist der Belag nach 18 Stunden auf Agarstrichcultur 6 mm, bei 18° C. jedoch nur 2 mm breit.

Derselbe wurde aus unbesprengtem Staub der Albertstrasse gezüchtet.

Der B. aureus liquefaciens besitzt einige Aehnlichkeit mit dem B. aureus minutissimus, jedoch ist dieser für Mäuse und Kaninchen pathogen.

7. B. aerophilo similis.

Grosse, dicke, schwach gekrümmte Stäbchen mit abgerundeten Enden und granulirtem Inhalt, meist zu zweien verbunden oder 4—5 gliedrige Fäden bildend; sie sind zweimal so lang als breit, zeigen sehr wenig Molecularbewegung, bilden Sporen und färben sich mit gewöhnlichen Anilinfarben, jedoch nicht nach Gram.

Auf der Gelatineplatte nach 2 Tagen grauweisse, 5 mm grosse, die Gelatine verflüssigende Colonien, die bei schwacher Vergrösserung runde,

gelblichweisse Scheibchen darstellen, welche in der Mitte wolkig getrübt sind und von dem Rande der die Trübung bedingenden Bacterienmasse in die verflüssigte Gelatine unbewegliche, spirillenförmige Fäden aussenden; nach 3 Tagen sind die Colonien 8 mm gross, zeigen aber sonst das gleiche Aussehen wie die 2 Tage alten Colonien.

In der Gelatinestichcultur nach 20 Stunden weisse, etwas in die Gelatine einsinkende Colonien; Stichkanal deutlich sichtbar; nach 2 Tagen 4 mm breite tellerförmige Verflüssigung der Gelatine unter Bildung eines dicken, weissen Häutchens; von dem Häutchen hängen in die verflüssigte Gelatine fransenart. Stränge herab; nach 4—5 Tg. erreicht die Verflüssig. die Reagenzgläschenwand und wird cylindrisch; die Verflüssigungszone selbst ist getrübt und von einem dick., weissen Häutchen bedeckt; am Boden bildet sich ein weisser Niederschlag.

In Glycerinagarstichcultur nach 2 Tagen saftig glänzende, weisse, dicke, rundliche Auflagerung mit glattem Rande und glatter Oberfläche; Stichkanal deutlich sichtbar.

Auf Glycerinagarstrichcultur nach 2 Tagen 10 mm breiter, saftiger, dicker, weisser Belag mit gelapptem Rande; Condenswasser klar mit weissem Bodensatz.

Bouillon zuerst fast klar, nach 4 Tagen fein staubartig getrübt mit reichlichem weissen Bodensatz; keine Häutchenbildung.

Traubenzuckerbouillon verhält sich wie gewöhnliche Bouillon, ist jedoch im offenen Schenkel mässig getrübt; keine Gas-, keine SH_2-Bildung; Indolbildung tritt erst später deutlich auf.

Auf Kartoffeln nach 2 Tagen saftiger, ziemlich dicker, weisser, nach 7 Tagen gelblichweisser, dicker, breiter, glattrandiger Belag, der in der Mitte einzelne kleine Körnchen zeigt; die Kartoffel selbst verfärbt sich braun.

Milch wird nach 3 Tagen coagulirt, jedoch nach 12 Tagen wieder verflüssigt; die anfangs saure Reaction wird nach der Verflüssigung alkalisch.

Bei 37° C. ist der Belag auf Agarstrichcultur nach 18 Stunden 11 mm, bei 18° C. jedoch nur 2 bis 3 mm breit.

Für Mäuse ist der B. aerophilo similis nicht pathogen.

Ich züchtete denselben zweimal aus besprengtem Staub der Johanniter- und Rheinstrasse. Folgende Bacterienarten sind ihm ähnlich:

B. aërophilus: Oberer Theil des Gelatineverflüssigungstrichters graugelb, ohne Häutchen, nach Gram färbbar. — B. implexus: Enden abgestutzt, nach Gram gut färbbar. — B. vermicularis und B. filiformis: Langsame Verflüssigung der Gelatine, nach Gram färbbar. — B. subtilis: Besitzt Eigenbewegung.

8. B. pseudobutyricus.

Kleine Stäbchen von der Grösse des B. coli, meist einzeln gelagert oder zu Zweien mit einander verbunden, bisweilen aus 4—6 Zellen bestehende Fäden bildend. Sporen sehr gross, meist mittelständig; bei der Sporenbildung schwellen die Mutterzellen tonnenförmig an, und es sistirt die sonst sehr lebhafte Eigenbewegung; mit den gebräuchlichen Farbstoffen und nach Gram

ist derselbe färbbar; er wächst aërob. In Gelatinenährböden ist die Sporenbildung sehr reichlich.

Auf der Gelatineplatte nach 3 Tagen grauliche, 1 mm grosse Colonien mit zackigem Rand, die bei schwacher Vergrösserung farblos aussehen und eine haarlockenähnliche Anordnung der Colonien erkennen lassen.

In der Gelatinestichcultur zuerst weisse Färbung des Stichkanals, nach 2 Tagen 4 bis 6 mm breite, tellerförmige Verflüssigung der Gelatine unter Bildung eines weissen Häutchens; nach 5 Tagen Verflüssigung bis zur Wand des Reagenzgläschens reichend. Stichkanal deutlich sichtbar; Verflüssigungszone durch Flocken getrübt.

Auf Glycerinagarstrichcultur nach 18 Stunden bei 18° C. Strichlinie grau verfärbt, bei 37° C. 6 mm breiter, ziemlich dünner, graulichweisser Belag; Condenswasser klar mit weissem Häutchen und Bodensatz.

Auf Blutserumstrichcultur zuerst weisslicher Belag, nach 6 Tagen Verflüssigung; am Boden der hierdurch entstehenden Rinnen eine weisse Bacterienmasse; Bildung von Gasbläschen.

Bouillon bei Zimmertemperatur nach 2 Tagen mittelmässig getrübt mit weisslichem Bodensatz; nach 3 Tagen Bildung eines weisslichen Häutchens.

Traubenzuckerbouillon bei 35° C. nach einem Tage stark getrübt mit weissem Häutchen und reichlichem Bodensatz; starke Gasbildung, keine Entwickelung von SH_2; Indol nachweisbar.

Milch wird bei 35° und 18° C. nach 3 bis 4 Tagen coagulirt; nach 12 Tagen wieder verflüssigt; Reaction sauer.

Auf Kartoffeln zuerst dünne, weisse, ziemlich trockene, später mässig dicke, grauliche Auflagerung mit rauher Oberfläche; bei 37° C. viel üppigeres Wachsthum als bei 18° C. Für Mäuse ist derselbe nicht pathogen.

Ich fand denselben in besprengtem Staub aus der Johanniterstrasse; wahrscheinlich gehört er zur Gruppe des Rauschbrand- und Buttersäurebacillus.

9. B. liquefaciens pathogenes.

Kurze, dicke Stäbchen mit abgerundeten Enden, 2—3 mal so lang als breit, ohne Eigenbewegung; Molecularbewegung vorhanden; mittelständige Sporenbildung; mit den gewöhnlichen Farbstoffen und nach Gram gut färbbar.

In der Gelatinestichcultur nach einem Tage trichterförmige Verflüssigung unter Entstehung einer Luftblase; nach 4 Tagen cylindrische Verflüssigung, die fast die Wand des Reagenzgläschens erreicht; Bildung eines dünnen, weissen Häutchens, sowie eines weissen Niederschlages; Verflüssigungszone zuerst fast klar, später mässig getrübt.

Auf Glycerinagarplatte nach 2 Tagen 0,5 bis 2 mm grosse, runde, graulichweisse Colonien, die bei schwacher Vergrösserung eine runde, in der Mitte dunkelgelbe, nach dem Rande hin helle, aus grossen Körnchen bestehende Scheiben darstellen; der Rand lockert sich in radiär gestellte Bacterienfäden auf.

In Glycerinstichcultur nach 2 Tagen saftig glänzende, dünne, weissliche Auflagerung; Stichkanal deutlich sichtbar.

Auf Glycerinagarstrichcultur nach 3 Tg. saftiger, glänzender, 5 mm breiter, ziemlich dicker, weisser, glattrandiger Belag; Condenswasser klar mit Bodensatz.

Auf Blutserumstrichcultur zuerst weisser Belag; nach 3 Tagen Verflüssigung; nach 10 Tagen vollständige Verflüssigung; Verflüssigungszone röthlich verfärbt. Geruch nach Erbsen.

Milch bei 37—35° C. nach 2—3 Tagen coagulirt; nach 10 Tagen verflüssigt.

Auf Kartoffeln nach einem Tage dünne, graulichweisse, ziemlich trockene Auflagerung mit glatter Oberfläche, die nach 3 Tagen in der Mitte grauweiss, peripherwärts bräunlich, am Rande selbst grauweiss gefärbt ist; Kartoffel verfärbt sich braun.

Bouillon bei 37° C. nach einem Tage stark getrübt mit dünnem weissen Häutchen und reichlichem weissen Bodensatz; Indolbildung anfangs spärlich, später ziemlich reichlich.

Traubenzuckerbouillon verhält sich wie gewöhnliche Bouillon; weder Gas- noch SH_2-Bildung.

Bei 37° nach 18 Stunden auf Agarstrichcultur fast über die ganze Oberfläche ausgebreiteter Belag, der bei 18° nur 2 mm breit ist.

Injection von 0,3 g für Mäuse pathogen.

Ich fand denselben in besprengtem Staub der Bismarckstrasse.

Der Bacillus besitzt Aehnlichkeit mit dem Bacillus gingivae pyogenes.

IV. Tabellarische Uebersicht über die Anzahl und die verschiedenen Arten der bei den Untersuchungen gefundenen Bacterien.

I. Anzahl der im Strassenstaube enthaltenen Keime.

	Staubmenge	Strassenname							
		Albertstrasse	Bismarckstrasse I	Bismarckstrasse II	Rheinstrasse	Hebelstrasse	Johanniterstr. I	Katharinenstr.	Johannitstrasse II
Besprengte Strassen	0,001 g	1 981	—†	—†	—†	—†	—†	—†	—†
	0,0005 g	1 031	—*	725	—*	153	42	—*	80
	0,00025 g	627	12	481	—*	—*	32	991	62
	0,000125 g	154	8	322	29	—*	10	598	13
	0,0000625 g	—†	—*	181	8	16	—*	334	—*
	Datum der Untersuch.	27. Juni 13. Juli	18. Juli	3. August	13. August	18. August	23. August	27. August	6. Sept.

	Staubmenge	Strassenname							
		Lehenerstrasse	Kanalweg zwischen Albert- u. Hebelstr.	Albertstrasse	Sautierstrasse I	Sautierstrasse II	Bismarckstrasse	Sautierstrasse III	Mittelweg
Nichtbesprengte Strassen	0,001 g	2 363	—†	2 091	—†	—†	33	—†	—†
	0,0005 g	—*	139	931	76	43	22	215	30
	0,00025 g	207	47	369	38	19	12	153	21
	0,000125 g	133	14	278	7	—*	3	72	18
	0,0000625 g	125	—*	92	5	3	—†	9	3

* In diesen Fällen wurden die Platten durch die Wärme verflüssigt.

† In diesen Fällen wurden keine Platten gegossen.

II. In dieser Tabelle sind die Zahlen der I. Tabelle auf 1 g Staub berechnet.

	Nummer der Platte	Strassenname							
		Albert-strasse	Bismarck-strasse I	Bismarck-strasse II	Rheinstrasse	Hebelstrasse	Johanniter-strasse I	Katharinen-strasse	Johanniter-strasse II
Besprengte Strassen	1	1 981 000	—†	—†	—†	'—†	—†	—†	—†
	2	2 062 000	—*	1 450 000	—*	306 000	84 000	—*	160 000
	3	2 508 000	48 000	1 924 000	—*	—*	128 000	3 964 000	248 000
	4	1 232 000	64 000	2 576 000	232 000	—*	80 000	4 784 000	104 000
	5	—†	—*	2 896 000	128 000	256 000	—*	5 344 000	—*
	Datum d. Unter-suchung	27. Juni / 13. Juli	18. Juli	3. August	13. August	18. August	23. August	27. August	6. September
	Nummer der Platte	Strassenname							
		Lehener-strasse	Kanalweg zwischen Albert- und Hebelstrasse	Albert-strasse	Sautier-strasse I	Sautier-strasse II	Bismarck-strasse	Sautier-strasse III	Mittelweg
Nichtbesprengte Strassen	1	2 363 000	—†	2 091 000	—†	—†	33 000	—†	—†
	2	—*	278 000	1 862 000	152 000	86 000	44 000	430 000	60 000
	3	828 000	188 000	1 476 000	152 000	76 000	48 000	612 000	84 000
	4	1 064 000	112 000	2 224 000	56 000	—*	24 000	576 000	144 000
	5	2 000 000	—*	1 472 000	90 000	48 000	—†	144 000	48 000

III. Diese Tabelle gibt die Durchschnittszahl sowie die grösste und kleinste Anzahl der in 1 g Staub gefundenen Colonien an.

		Strassenname							
		Albert-strasse	Bismarck-strasse I	Bismarck-strasse II	Rhein-strasse	Hebel-strasse	Johanniter-strasse I	Katharinen-strasse	Johanniter-strasse II
Besprengte Strassen	Durchschnittsanzahl	1 945 750	56 000	2 211 500	180 000	281 000	97 333	4 697 333	170 666
	Grösste Anzahl	2 508 000	64 000	2 896 000	232 000	306 000	128 000	5 344 000	248 000
	Kleinste Anzahl	1 232 000	48 000	1 450 000	128 000	256 000	80 000	3 964 000	104 000
	Dauer des Sonnenscheins	4 Stunden / ca. 2 Tage	ca. 5 Tage	ca. 4 Tage	ca. 6 Tage	ca. 11 Tage	ca. 26 Tage	ca. 2 Tage	ca. 6 Tage
		Strassenname							
		Lehener-strasse	Kanalweg zwischen Albert- und Hebelstrasse	Albert-strasse	Sautier-strasse I	Sautier-strasse II	Bismarck-strasse	Sautier-strasse III	Mittelweg
Nichtbesprengte Strassen	Durchschnittsanzahl	1 563 750	192 666	1 825 000	112 500	70 000	37 250	440 500	84 000
	Grösste Anzahl	2 363 000	278 000	2 224 000	152 000	86 000	48 000	612 000	144 000
	Kleinste Anzahl	828 000	112 000	1 472 000	56 000	48 000	24 000	144 000	48 000

IV. Gesammtdurchschnitt sämmtlicher Einzeldurchschnitte sowie sämmtlicher grösster und kleinster Mengen der in je 1 g Strassenstaub enthaltenen Bacterien; für alle obgenannten Strassen mit Ausnahme des Kanalweges berechnet.

	Besprengte Strassen	Nichtbesprengte Strassen
Durchschnittsanzahl	1 204 948	589 857
Grösste Anzahl	1 465 750	804 143
Kleinste Anzahl	907 750	373 857

V. Tabelle der im Strassenstaub gefundenen Bacterienarten sowie der Häufigkeit ihres Auftretens in besprengtem und nichtbesprengtem Staub.

Bacterienarten	Besprengte Strassen								Kanalweg zwischen Albert- u. Hebelstr.	Nichtbesprengte Strassen						
	Albertstrasse	Bismarckstr I	Bismarckstr. II	Rheinstrasse	Hebelstrasse	Johanniterstr. I	Katharinenstr.	Johanniterstr. II		Lehenerstrasse	Albertstrasse	Sautierstrasse I	Sautierstr. II	Bismarckstrasse	Sautierstr. III	Mittelweg
M. candicans . .	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—
M. candidus . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
M. cereus albus .	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
M. coronatus . .	+	—	—	—	—	+	+	+	—	+	—	—	+	—	+	—
M. luteus	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
M. rosettaceus . .	+	+	+	—	—	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	—
M. sulfureus . .	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—	—	+	—	+
M. concentricus .	—	—	+	+	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
M. radiatus . . .	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
M. crêmoides . .	—	+	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—	+	—
M. coralloides . .	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M. viticulosus . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
M. roseus	—	—	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
M. albus liquef. .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
M. citreus liquef. .	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dip. citr. conglomer.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
M. rubefaciens . .	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Strept. cinereus .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
Staphro. p. albus .	—	+	+	—	—	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+	—
Staphro. p. citreus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Staphro. p. aureus	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—	+	+	—
Porzellancoccus . .	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Oo. chromogenes .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—
B. subtilis . . .	—	—	+	+	—	+	—	+	+	+	+	+	—	+	+	+
B. megatherium .	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	+	—	+
B. mycoides . . .	+	—	+	—	—	—	—	—	+	+	—	+	+	—	—	+
B. vulgatus . . .	—	—	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+

Bacterienarten	Besprengte Strassen								Kanalweg zwischen Albert- u. Hebelstr.	Nichtbesprengte Strassen						
	Albertstrasse	Bismarckstr. I	Bismarckstr. II	Rheinstrasse	Hebelstrasse	Johanniterstr. I	Katharinenstr.	Johanniterstr. II		Lehenerstrasse	Albertstrasse	Sautierstrasse I	Sautierstr. II	Bismarckstrasse	Sautierstr. III	Mittelweg
B. erythrogenes	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. ochroceus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	—
B. helvolus	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
B. disciformans	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Der gelbe Bacillus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
B. fulvus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. arborescens	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. aërophilus	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. nubilus	+	—	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
B. turcosa	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. aquatilis	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	+
B. pyocyaneus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—
B. fluorescens	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
B. implexus	—	—	+	—	—	+	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—
B. mucosus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
B. lactis albus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
B. vulgare	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
B. crêmoides	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
B. candicans	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	—	+
B. albus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
B. diffusus	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—	+	—	—	+
B. radiatus aquatilis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—
Proteus mirabilis	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. citreus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—
B. cuticularis	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. ramosus liquef.	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—	—
B. denitrificans	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
B. liquidus	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
B. stellatus	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Der theebraunfarb. Bacillus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. albus liquefaciens	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
B. megath. simulans	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
B. pituitosus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
B. aureus liquefac.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
B. aëroph. simulans	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. pseudobutyricus	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. liquef. pathogenes	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
Hefe	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—
Schimmelpilze	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+

VI.

In besprengtem Strassenstaub nicht gefundene Bacterienarten, die aus unbesprengtem Strassenstaub gezücht. wurden	In unbesprengtem Strassenstaub nicht gefundene Bacterienarten, die aus besprengtem Strassenstaub gezüchtet wurden
M. albus liquefaciens	M. coralloides
Dip. citreus conglomeratus	M. roseus
Strep. cinereus	M. citreus liquefaciens
Oo. chromogenes	M. rubefaciens
B. megatherium	B. erythrogenes
B. fluorescens liquefaciens	B. helvolus
B. mucosus	B. disciformans
B. lactis albus	B. fulvus
B. crêmoides	B. arborescens
B. albus	B. aërophilus
B. radiatus aquatilis	B. nubilus
B. citreus	B. turcosa
B. denitrificans	Proteus mirabilis
B. megatherium simulans	B. cuticularis
B. pituitosus	B. liquidus
B. aureus liquefaciens	B. stellatus
B. liquefaciens pathogenes	Der theebraunfarbene Bacillus
	B. aërophilus simulans
	B. pseudobutyricus

Fasse ich zum Schluss die Resultate meiner Arbeit kurz zusammen, so lassen sie sich folgendermaassen formuliren:

1. Der dem niemals besprengten Canalwege entnommene Staub enthält dreimal so viel Bacterien als einer beliebigen Strasse der Stadt entnommener besprengter Staub; die Ursache hierfür liegt wahrscheinlich darin, dass der Gewerbecanal den Canalweg immer gleichmässig feucht erhält.
2. Die Anzahl der in besprengtem Staub vorhandenen Bacterien übertrifft die in unbesprengtem Staub lebenden um mehr als das Doppelte (1204948 : 589857), weil der Wassergehalt des besprengten Strassenstaubes für die Vermehrung der Bacterien günstig ist.
3. Nach vier Tage lang anhaltendem schönen Wetter ergab die Untersuchung in 1 g unbesprengten Strassenstaub

den Gehalt von 1 893 000, in besprengtem Strassenstaub dagegen den Gehalt von 2 211 500 Bacterien.

Nach 26 Tage lang dauerndem, schönen, trockenen Wetter war die Anzahl der Bacterien in je 1 g bei unbesprengtem Staub durchschnittlich auf 37 250 gesunken, während besprengter Staub nur noch 97 333 Bacterien enthielt.

Es gingen demnach unter dem andauernden Einfluss der Sonne in unbesprengtem Staub 981 ‰, in besprengtem 956 ‰ der Bacterien zu Grunde.

Während das Procentverhältnis der abgestorbenen Bacterien fast das gleiche ist, unterscheiden sich die absoluten Mengen derselben, indem auch nach 26 Tage lang dauerndem, trockenen, warmen Wetter die Zahl der Bacterien in besprengtem Staub diejenige in unbesprengtem noch um mehr als das Doppelte übertrifft.

Nicht ohne Interesse ist die verschiedene Art des Absterbens der Keime in beiden Fällen, welche auf die verschieden grosse Widerstandsfähigkeit gewisser Bacterienarten — dabei handelt es sich in erster Linie um die sporenbildenden Bacterien, dann aber auch um einzelne Bacterien von besonderer Widerstandsfähigkeit ohne Sporenbildung, besonders Coccen — gegenüber dem Sonnenlicht und der Austrocknung zurückzuführen ist.

Stets ist dabei der Factor maassgebend, dass die Besprengung des Staubes günstigere Lebensbedingungen schafft.

Wir finden nämlich, dass in besprengtem Staub erst nach 14 Tagen die weniger widerstandsfähigen Arten unter den eben angegebenen Bedingungen — trockenes, warmes Wetter, Sonnenschein, regelmässige Besprengung — nicht mehr nachzuweisen sind, während sie in unbesprengten Strassen unter den gleichen Bedingungen höchstens vier Tage lang leben. Die widerstandsfähigeren Arten sterben dagegen in beiden Fällen allmählich ab.

4. Die Bacterien in besprengtem und unbesprengtem Staub sind zum Theil verschieden; es ist diese Thatsache für die Hygiene ohne Bedeutung, da die wenigen pathogenen Arten sich in den beiden Staubarten gleich verhalten.
5. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden folgende Bacterienarten gefunden:

   Staphylococcus pyogenes aureus, albus, citreus, Bacillus pyocyaneus, Bacillus vulgaris und B. liquefaciens pathogenes.
6. Die Widerstandsfähigkeit der angeführten pathogenen Bacterien gegenüber andauerndem Sonnenschein kann aus folgenden Angaben erkannt werden:

   Staphylococcus pyogenes aureus, albus und citreus, sowie B. liquefaciens pathogenes wurden noch nach 26 Tage lang andauerndem, regenlosen Wetter, während welcher Zeit täglich der Himmel frei und der Staub den Strahlen der Sonne beständig ausgesetzt war, in demselben nachgewiesen.
7. In besprengtem und unbesprengtem Staub fand ich die gleichen pathogenen Bacterienarten mit Ausnahme des Bacillus vulgaris, den ich nur im Staub des niemals besprengten Canalweges fand.
8. Aus diesen Angaben ersehen wir, dass die Besprengung der Strassen vom hygienischen Standpunkt aus insofern ungünstig zu beurtheilen ist, als die Zahl der im Staub lebenden Bacterien, worunter verschiedene pathogene Arten sind, nach der Besprengung um mehr als das Doppelte zunimmt.

Unter den ziemlich zahlreichen Untersuchungen über den Keimgehalt des Bodens führten diejenigen Miquel's*) zu Resultaten, welche den meinigen sehr ähnlich sind.

Er fand in 1 g Staub zweier Strassen im einen Falle 1300000, im anderen 2100000 Keime.

*) Wiener klin. Wochenschr., 1896, Nr. 52.

Aehnlich verhalten sich Reimer's[12]) und Fülle's[14]) Resultate.

Unter den Untersuchungen über den Einfluss des Sonnenlichtes und des Wassermangels auf das Leben der Mikroorganismen sind folgende hervorzuheben:

Dieudonné[3]) stellte fest, dass das directe Sonnenlicht im März, Juli und August in $1^1/_2$ Stunden, im November dagegen erst in $2^1/_2$ Stunden den B. fluorescens putridus abtödtet.

Milzbrand und Typhus sollen im Frühjahr in 5 bis 6 Tagen durch das Sonnenlicht abgetödtet worden sein.

Charrin*) fand, dass das Sonnenlicht Milzbrandbacillen verhältnismässig rasch vernichtet, den Bacillus pyocyaneus dagegen viel langsamer.

Sanfelice*) gibt an, dass dem directen Sonnenlichte die Sporen des Bacillus des malignen Oedems 50 Stunden lang im Boden widerstehen.

Nach Sternberg*) soll das directe Sonnenlicht in 4 Stunden die Cholerabacillen tödten.

Buchner[1]) fand, dass im Wasser, das zu Beginn des Versuches 100000 Keime des B. coli commune im Cubikcentimeter enthielt, schon nach einstündiger Exposition in directem Sonnenlicht durch das Plattenverfahren keine Bacterien mehr nachgewiesen werden konnten.

Nach F. Wittlin[15]) soll das Sonnenlicht nach drei Stunden den Staphylococcus pyogenes aureus, das Bacterium coli und den B. pyocyaneus in trockenem Staub tödten, während dieselben in feuchtem Staub noch nach zwei Tagen lebensfähig sind; B. anthracis und Thyrothrix tennis konnten sowohl in begossenem als in nicht begossenem Strassenstaub in zwei Tagen durch das directe Sonnenlicht nicht abgetödtet werden.

Wittlin's[15]) Resultate über den Einfluss des Sonnenlichts auf Bacterien im Strassenstaub sind in folgenden beiden Tabellen zusammengestellt:

*) Wiener klin. Wochenschr., 1896, Nr. 52.

I.

	Nicht begossen			Begossen		
Dauer der Exposition . .	1 Tag	2 Tage	3 Tage	1 Tag	2 Tage	3 Tage
Durchschnittliche Keimzahl	490	142	18	1 597	6 533	5 100

II.

Der Staub lag vor der Untersuchung 5 Tage lang im Dunkeln.

	Nicht begossen			Begossen		
Dauer der Exposition . .	—	1 Tag	2 Tage	—	1 Tag	2 Tage
Durchschnittliche Keimzahl	—	24 920	216	—	25 133	114 000

Aus Tabelle I ersehen wir, dass in nicht begossenem Staub unter dem Einfluss des Sonnenlichtes mehr als 97% der Bacterien zu Grunde gehen, während im begossenen Staub sich dieselben trotz des Sonnenlichtes fast um das Vierfache am 2. Tage vermehrt haben, um erst am 3. Tage etwa um ein Fünftel an Zahl abzunehmen.

Tabelle II zeigt, dass die vernichtende Kraft der Sonne ganz ausserordentlich gross ist, wenn der Staub nicht besprengt wird, indem von den 24920 Keimen am 2. Tage nur noch 216 leben, während sich dieselben in besprengtem Staub binnen 24 Stunden um das Viereinhalbfache vermehren.

Nach Kitasato[10]) und Koch wird der Vibrio cholerae durch Austrocknung schon in 2 bis 3 Stunden, durch das Sonnenlicht noch rascher getödtet.

So schädlich nun auch sowohl nach den Ergebnissen meiner eigenen Untersuchungen als denjenigen anderer Autoren der Einfluss des Sonnenlichtes und der Austrocknung auf die Bacterien einwirkt, so dürften doch die Angaben Wittlin's[15]) insofern etwas einzuschränken sein, als sie die bacterientödtende Kraft der beiden erwähnten Factoren doch zu gross angeben.

Auch von den Untersuchungen der übrigen angeführten Autoren weichen meine Resultate insofern ab, als die bacterientödtende Kraft der Sonne und der Einfluss der Austrocknung

nach meinen Untersuchungen geringer ist, als man bisher annahm.

Die Gründe dafür sind wahrscheinlich darin zu suchen, dass durch das Begehen und Befahren der Strassen, sowie durch andere Ursachen abwechselnd tiefere Schichten, in denen durch das Sonnenlicht die Bacterien nicht zerstört werden, an die Oberfläche gelangen, als auch darin, dass von oben her die Bodenoberfläche durch Menschen und Thiere, die mit Krankheitsprocessen behaftet sind, z. B. durch das Sputum, durch Faeces oder direct durch Eiter verunreinigt wird.

Aus diesen Untersuchungen geht also hervor, dass die Menge der lebensfähigen Keime in den besprengten Strassen eine grössere ist als in den nichtbesprengten, indem die letzteren durchschnittlich um mehr als das Doppelte von den ersteren an Zahl übertroffen werden.

Von den für den Menschen nachgewiesen pathogenen Spaltpilzen, den Staphylococcen, lässt sich allerdings kein wesentlicher Unterschied in den nicht besprengten und den besprengten Strassen nachweisen. Dennoch ist indessen die Thatsache an sich, dass mehrfach in nichtbesprengtem Strassenstaub Staphylococcen nachgewiesen wurden, nicht ohne Interesse.

Wenn nun auch für gewöhnlich in besprengtem Staub die Zahl der Bacterien um das Doppelte höher gefunden wird als in nichtbesprengtem, so sehen wir doch aus der unter Ziff. 3 angegebenen Berechnung, dass auf die Dauer auch in besprengten Strassen die Bacterienkeime vernichtet werden, indem das Procentverhältnis der in 26 Tagen unter dem Einfluss des Sonnenlichtes und der Austrocknung zu Grunde gehenden Bacterien in beiden Fällen fast genau das gleiche ist.

Ausserdem treten die Schädlichkeiten, welche etwa durch die in besprengtem Staub in doppelter Menge vorhandenen Bacterien hervorgerufen werden könnten und welche lediglich auf die Zersetzung organischen Materials zurückzuführen sein würden, zurück vor dem sanitären Nutzen, den die Besprengung zur Folge hat und welcher nicht nur in der Herabsetzung der Temperatur durch die Bindung der zum Verdunsten des versprengten

Wassers nöthigen Verdampfungswärme, sondern hauptsächlich in der Fixation des Staubes am Boden besteht, wodurch dem Entstehen von Staubinhalationskrankheiten, sowie infectiösen Erkrankungen der Respirationsorgane vorgebeugt wird.

Anders würden sich die Verhältnisse stellen, wenn statt einer Besprengung der Strassen überall eine Abspülung stattfinden würde, wie das in den Centren der grossen Städte zur regelmässigen Reinigung geschieht (Paris, Berlin).

Dann kann man die berechtigte Erwartung haben, dass mit der Abschwemmung sämmtlicher Unreinlichkeiten von den gut befestigten Strassendämmen natürlich auch die Bacterien abgespült und mit dem Canalwasser in geeigneter Weise entfernt werden.

Die Frage nach der rationellen Behandlung der Bürgersteige und Strassendämme zur heissen, trockenen Jahreszeit dürfte demnach am ehesten dahin beantwortet werden, dass vom bacteriologisch-hygienischen Standpunkt aus Sprengen oder Nichtsprengen sich etwa bezüglich der einzelnen dafür oder dagegen sprechenden Gründe die Wage halten, dass jedoch eine rationelle ideale Behandlung der Strassen zur heissen, trockenen Jahreszeit in dem öfteren, regelmässigen Abspülen derselben mit grösseren Wassermengen bestehen würde.

Zum Schlusse möge es mir noch gestattet sein, sowohl insbesondere Herrn Professor Dr. Schottelius für die Stellung des Themas und die werthvollen Rathschläge bei der Ausführung der Arbeit, als auch Herrn Dr. phil. C. Korn, und Herrn Dr. med. Friedr. Müller, für ihre freundliche Hilfe meinen tiefsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) H. Buchner, Ueber den Einfluss des Lichtes auf Bacterien. Centralblatt f. Bact., Bd. 11, S. 781; Bd 12, S. 217.

2) P. Chmelewsky, Zur Wirkung des Sonnen- und elektrischen Lichtes auf die Eiterbacterien. Wratsch 1892, Nr. 20.

3) A. Dieudonné, Beiträge zur Beurtheilung der Einwirkung des Lichtes auf Bacterien. Mittheil. aus d. kais. Gesundheitsamt, Bd. IX, S 405.

4) Kühner, Monographie. Berlin, Heusser's Verlag, S. 56.

5) G. Marpmann, Die Untersuchung des Strassenstaubes auf Tuberkelbacillen. Centralbl. f. Bact., 1893, Bd. 14, Nr. 8.

6) O. Meyrich, Staubpilze in der Schule und Vorschläge zu ihrer Beseitigung. Zeitschr. f. Schulgesundheitspflege, Nr. 8 u. 9.

7) Raspe, Einfluss des Sonnenlichts auf Mikrobien. Diss. Severin, 1891. Institut Uffelmann.

8) E. Richter, Strassenhygiene etc. Handbuch der Hygiene von Dr. Weyl, Bd. II, Abth. 2, Heft 2.

9) C. Fränkel, Untersuchungen über das Vorkommen von Mikroorganismen in verschiedenen Bodenschichten. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 2, S. 521.

10) S. Kitasato, Die Widerstandsfähigkeit der Cholerabacterien gegen das Eintrocknen und gegen Hitze. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 5, S. 134.

11) C. Frankland, Ueber einige typische Mikroorganismen im Wasser und im Boden. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 6, S. 373.

12) J. Reimers, Ueber den Gehalt des Bodens an Bacterien. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 7, S. 307.

13) Beumer, Zur Bacteriologie des Bodens. Berliner medic. Wochenschrift, 1886, Nr. 27.

14) P. Fülle, Bacteriologische Untersuchungen des Bodens in der Umgebung von Freiburg i. B. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 10, S. 225.

15) F. Wittlin, Ueber die Einwirkung der Sonnenstrahlen auf den Keimgehalt des Strassenstaubes. Wiener klin. Wochenschr., 1896, Nr. 52, S. 1229.

Untersuchungen über die Beeinflussung der Serumalexine durch Bacterien.

Von

Dr. **Oskar Bail,**
Assistenten des Institutes.

(Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag.
Vorstand: Prof. Hueppe.)

I. Historische Einleitung.

Seit ihrer Entdeckung haben die keimtödtenden Eigenschaften des normalen thierischen Blutes, namentlich mit Rücksicht auf ihre Beziehung zum Immunitätsproblem, eine sehr verschiedene Werthschätzung erfahren. Naturgemäss ging mit der grösseren oder geringeren Bedeutung, die man ihnen beilegte, ein mehr oder weniger intensives Studium ihrer merkwürdigen Natur einher.

Schon lange vor Beginn der mit eigenen, streng wissenschaftlichen Methoden arbeitenden, bacteriologischen Epoche, wurden Beobachtungen gemacht, die auf ein eigenartiges Verhalten des Blutes, gegenüber den als Fäulniserregern bekannten Mikroorganismen hinzudeuten schienen.

Hieher gehören bereits in gewissem Sinne alle die zahlreichen Arbeiten, welche in die Streitfrage eingriffen, ob im lebenden Blute und Gewebe gesunder Thiere und natürlich auch des Menschen entwicklungsfähige Keime vorhanden seien oder nicht. Die zahlreichen, theilweise noch bis in den Anfang der 80er Jahre hineinreichenden Untersuchungen von van den Broek[1]),

---

1) van den Broek, Annal. der Chemie und Pharmacie, 1860, S. 75, cit. nach Hueppe, Arbeiten a. d. kais. Gesundheitsamt, II, S. 318.

Pasteur[1]), Billroth[2]), Zweifel[3]), Zahn[4]) u. v. A., konnten, mit unzureichenden Methoden und ohne jede, auch nur ungefähre Kenntnis der obwaltenden Verhältnisse unternommen, natürlich zu einem einwandfreien Resultate nicht führen.

Als die Frage nach dem Vorhandensein von lebenden Bacterien im Blute gesunder Thiere mit voller Sicherheit im negativen Sinne entschieden werden konnte, war auch »die Fähigkeit lebenden Blutes, Bacterien zu tödten« (Fodor)[5]) entdeckt. — Hatten schon einzelne der citirten Forscher feststellen können, dass ein, unter gehörigen Vorsichtsmaassregeln entnommenes und aufbewahrtes Blut sich lange Zeit hindurch unzersetzt und unverändert erhält, so brachten die Arbeiten von Lewis und Cunningham[6]), sowie die von Traube und Gscheidlen[7]), Anfangs der 70er Jahre einen weiteren Fortschritt. Genannte Untersucher spritzten lebenden Thieren bacterienreiche Flüssigkeiten direct in die Blutbahn ein und Traube und Gscheidlen konnten nachweisen, dass Blut, welches nur kurze Zeit nach directer Injection von Fäulniskeimen dem Thiere entnommen worden war, sich völlig unverändert hielt, sobald es nur entsprechend entnommen und weiter aufbewahrt wurde. Sie leiteten consequenter Weise aus diesem Befunde den Schluss ab, dass die eingebrachten Keime vernichtet worden sein mussten.

1) Pasteur, Comptes rendus, Bd. 56, S. 738 f.

2) Billroth, Die Vegetationsformen der Coccobakteria septica. Wien 1874.

3) Zweifel, Zeitschrift für physiol. Chemie, 1882, VI, S. 386.

4) Zahn, citirt nach v. Fodor.

5) v. Fodor, Bacterien im Blute lebender Thiere. Arch f. Hyg., 1886, IV, S. 129. Daselbst auch eine ausführliche Zusammenstellung der älteren Literatur.

6) Lewis und Cunningham, cit. nach Buchner. Arch. f. Hyg., X, S. 90.

7) Traube und Gscheidlen, Ueber Fäulnis und den Widerstand der lebenden Organismen gegen dieselbe. Schlesische Gesellschaft für vaterländische Cultur, 1874.

Im Jahre 1884 konnte Grohmann[1]) feststellen, dass auch extravasculäres Blut auf Bacterien, Hefe und Schimmelpilze einen sehr ungünstigen Einfluss ausübe.

Die Einführung der noch jetzt gebräuchlichen Züchtungsmethoden gestattete es v. Fodor[2]), mit Sicherheit die Anwesenheit von lebensfähigen Keimen im Blute gesunder Kaninchen zu verneinen; auch wenn die getödteten Thiere bereits Fäulniserscheinungen zeigten, fand er das Blut auffallend arm an Bacterien. Spritzte er selbst ungeheure Mengen lebender, nicht pathogener Spaltpilze in die Blutbahn ein (Bac. subtilis, Megatherium, »Bact. termo«), so waren dieselben schon nach Verlauf weniger Stunden nicht mehr im Blute aufzufinden. v. Fodor nimmt mit voller Bestimmtheit als Grund dieser Erscheinung eine keimvernichtende Eigenschaft des Blutes an.

Versuche in ähnlicher Weise stellte in grossem Maassstabe im Jahre 1886 Wyssokowicz[3]) mit dem wesentlich gleichen Resultate an. Er deutete jedoch das Verschwinden der Bacterien anders als v. Fodor und bezog es nicht so sehr auf eine vom Blute ausgehende Abtödtung, als vielmehr auf eine Art von Filtration des bacterienreich gemachten Blutes durch die Organe und auf eine Ablagerung der Mikroorganismen im Capillargebiete. Doch war auch Wyssokowicz gezwungen, anzunehmen, dass »die in den inneren Organen abgelagerten Bacterien . . . ebendort grösstentheils zu Grunde gehen«.

Die Versuche, welche im lebenden Thierkörper, das Schicksal der in den Kreislauf injicirten saprophytischen und pathogenen Mikroorganismen verfolgten, gestatteten nicht viel mehr als die Beantwortung der Frage, ob und höchstens wie viele der eingeführten Bacterien nach einer bestimmten Zeit im circulirenden Blute vorhanden seien; und selbst die Constatirung ihres Verschwindens konnte damals, wie die Versuche von Wyssokowicz zeigten, nicht eindeutig auf das Vorhandensein keim-

---

1) Grohmann, Dissertation, cit. nach Buchner.

2) a. a. O.

3) Wyssokowicz, Ueber die Schicksale der ins Blut inficirten Mikroorganismen im Körper der Warmblüter. Zeitschr. f. Hyg., I, 1886, S. 3 ff.

vernichtender Einflüsse bezogen werden. Jedenfalls wurde ein Aufschluss über die Art und Weise, wie Bacterien und Blut aufeinander einwirken, in keiner Weise gegeben.

Es muss daher als ein grosser Fortschritt auf diesem Gebiete bezeichnet werden, dass man begann, die Verhältnisse des extravasculären Blutes und anderer Gewebsflüssigkeiten zu studiren. Die Veranlassung dazu bildete in mehr oder weniger deutlich ausgesprochener Weise die Aufstellung der Phagocytentheorie von Metschnikoff[1][2][3]. Man suchte vornehmlich den Nachweis zu liefern, dass auch ausserhalb der Zellen lebende Bacterien zu Grunde gehen können. Die Folge davon waren die ausgedehnten Untersuchungen von Nuttall, Nissen, Behring und namentlich von Buchner und seiner Schule.

Nuttall[4] stellte zunächst gegenüber Metschnikoff fest, dass eine Vernichtung von Bacterien im lebenden Körper den Phagocyten allein nicht zukomme. Er sah in mikroskopischen Beobachtungen Bacterien nicht nur ausserhalb von Zellen degeneriren, sondern auch in Flüssigkeiten, wie Humor aqueus, absterben, die von vornherein keine Leukocyten enthalten hatten. Seine Ansicht über bactericide Wirkung der Körperflüssigkeiten stützte er durch Culturversuche. — Solche hatte bereits ein Jahr früher v. Fodor[5] unternommen. In Wiederholung seiner früheren Versuche[6] injicirte er zunächst in die Blutbahn von Kaninchen diesmal pathogene Bacterien (Milzbrand) und fand, dass schon kurze Zeit nach der Injection aus dem Herzblute nur äusserst wenige Colonien mehr gezüchtet werden konnten.

1) Metschnikoff, Ueber eine Sprosspilzkrankheit der Daphnien. Virchow's Archiv, XCVI.

2) Metschnikoff, Ueber den Kampf der Zellen gegen die Erysipelcoccen. Virchow's Archiv, CVII, 209.

3) Metschnikoff, Sur la lutte des cellules de l'organisme contre l'invasion des microbes. Ann. de l'Inst. Past., 1887, I, S. 321.

4) Nuttal, Experimente über die bacterienfeindlichen Einflüsse des thierischen Körpers. Zeitschr. f. Hyg., 1888, IV, S. 353 ff.

5) v. Fodor, Die Fähigkeit des Blutes, Bacterien zu vernichten. Deutsche medic. Wochenschr., 1887, Heft 34.

6) Arch. f. Hyg., IV, S. 140—144.

Brachte er Bacillen in Blutproben, die er bei Bluttemperatur aufbewahrte, so konnte er ein Absterben der eingesäten Keime feststellen, fand aber auch, dass auf die Periode der Abtödtung eine solche der stärksten Vermehrung folge.

Nuttall vermied den Fehler, der in den Fodor'schen Versuchen durch die rasch eintretende Gerinnung des Blutes gegeben war, dadurch, dass er das dem Thiere aseptisch entnommene Blut, vor seiner Verwendung defibrinirte. Impfte er die gleichmässig vertheilten, stets auf einer Temperatur von ca. 37° gehaltenen Blutproben mit lebenden Bacterien, so fand binnen kurzer Zeit ein starkes Absinken der ursprünglichen Zahl statt. Gleich v. Fodor beobachtete er, dass, wenn nicht alle Bacterien von vornherein abgetödtet wurden, nach einiger Zeit eine Vermehrung derselben eintrat, dass das Blut verschiedener Thiere für den gleichen Mikroorganismus verschieden wirksam sei, sowie dass das Blut derselben Thiergattung verschiedene Arten von Bacterien quantitativ sehr ungleichmässig beeinflusst. Er stellte ferner fest, dass das keimtödtende Vermögen bei längerer Aufbewahrung, sowie bei Einwirkung höherer Temperaturen verloren geht.

Nissen[1]) konnte ein Jahr später die Ergebnisse der Nuttall'schen Arbeit vollständig bestätigen und hatte, bei Zurückweisung der Assimilationstheorie von Petruschky[2]), bereits Gelegenheit, auf einen später wichtig gewordenen Einwand gegen die bactericide Fähigkeit des Blutes einzugehen, indem er zeigte, dass das Absterben der Keime durch Mangel assimilirbarer Nährstoffe nicht bedingt sein könne. Er fand weiter, dass zwischen der Keimabtödtung des Blutes und der Zahl der zugefügten lebenden Bacterien eine gewisse Beziehung bestehe, insofern es »einen maximalen Zusatz von Bacterien gibt, über den hinaus die Abtödtung eine unvollkommene wird«.

---

1) Nissen, Zur Kenntnis der bacterienvernichtenden Eigenschaft des Blutes. Zeitschr. f. Hyg., 1889, VI, S. 487.

2) Petruschky, Untersuchungen über die Immunität des Frosches gegen Milzbrand. Ziegler's Beiträge z. pathol. Anat. u. allg. Path., 1888, III, S. 375.

In Verfolgung dieser wichtigen Ermittlung stellte er fest, dass das Blut von Thieren, welchen unmittelbar vor der Blutentnahme grosse Mengen lebender Bacterien direct in das Gefässsystem injicirt worden waren, an seiner bactericiden Kraft eine Einbusse erlitten habe. Von den Ursachen, auf die er diese Thatsache bezog, konnte er das Vorhandensein »chemischer, mit der Bacterienaufschwemmung in die Blutbahn eingeführter Stoffe« auf Grund eigener Versuche ausschliessen, so dass er als Ursache eine Erschöpfung der keimwidrigen Eigenschaft des Blutes durch die vorangegangene Abtödtung zahlloser Keime ansieht.

Mit grosser Vorsicht spricht sich Nissen[1]) über ein eigenes Phänomen aus, welches er bei diesen Untersuchungen zu beobachten Gelegenheit hatte. Injicirte er in die Gefässe eines Kaninchens grosse Mengen einer aus Wasser gezüchteten Coccenart, so war die keimtödtende Kraft des extravasculären Blutes zwar für den gleichen Coccus sehr erheblich herabgemindert; nicht aber für den Choleravibrio und den Typhusbacillus. Diese Erscheinung, welche sich bei weiteren Versuchen mutatis mutandis wiederholte, konnte weder dadurch erklärt werden, dass die Coccen auf der Platte die Choleracolonien nicht aufgehen liessen, noch dadurch, dass etwa auch normales Blut, bei gleichzeitiger Einsaat des Caccus und des Choleravibrio, nur den letzteren vernichtet hätte, den ersteren aber nicht. Denn normales Blut tödtete zusammen eingesäte Choleravibrionen und Coccen binnen 10 Minuten ab und in Controlversuchen wuchsen beide nebeneinander auf derselben Platte. »Daraus folgt, dass die Erhaltung der Coccen in der Eigenthümlichkeit des durch Cocceninjection veränderten Blutes begründet liegt«.

Es ist auffallend, dass diese interessanten Versuche zunächst so unbeachtet blieben, dass davon z. B. in dem Referate von Petruschky[2]) über die Arbeit von Nissen nichts erwähnt

1) a. a. O. S. 498.

2) Baumgarten's Jahresbericht, 1889, V, S. 523. 524.

wird. Um so auffallender, als ungefähr gleichzeitig mit Nissen, Buchner[1][2]), die Arbeiten aller seiner Vorgänger controlirend und eine Fülle neuer Thatsachen beibringend, seine ersten Mittheilungen veröffentlichte, denen im nächsten Jahre die ausführliche Publication folgte.[3])

Auch Buchner, der die Schlüsse, zu denen Nissen gelangt war, kritisch wiedergibt, führt, wie es Nissen selbst gethan hatte, die Erfahrung des Sinkens der bactericiden Kraft des Blutes, nach vorangegangener Bacterieninjection, auf dieselben nicht näher bekannten Ursachen zurück, wie sie dem Versagen der Bactericidie bei aller reichlicher Einsaat in das extravasculäre Blut zu Grunde liegen; über die Versuche von Nissen mit den ungleichartigen Bacterien spricht er sich nicht aus. Buchner fand, dass den bereits bekannten Eingriffen, die mit Verlust der bactericiden Wirkung des defibrinirten Blutes einhergehen, noch das Gefrierenlassen zuzurechnen sei und konnte nachweisen, dass dieses Unwirksamwerden auf eine Paralysirung des bacterienschädlichen Einflusses durch Nährstoffe beruhe, welche beim Zerfall der rothen Blutkörperchen frei werden. Er bewies die Möglichkeit des Zugrundegehens pathogener Bacterien im intravasculären Blute zahlenmässig, bestimmte die Haltbarkeit der Bactericidie und stellte fest, dass dem völlig zellfrei gemachten Serum dieselbe Wirkung wie dem Gesammtblute zukomme. Wie die des Blutes, so wird auch die Serum-Wirkung durch Erhitzen auf 55—60° aufgehoben, nicht aber durch Einfrieren, selbst wenn dies mehrfach wiederholt wird. Weiterhin untersuchte er den Einfluss, den die Neutralisation der alkalischen Serumreaction und die Entfernung der Kohlensäure auf die Stärke der Keim-

1) Buchner, Ueber die bacterientödtende Wirkung des zellenfreien Blutserums. Vortrag, gehalten in der morphol. physiol. Gesellschaft zu München am 7. Mai 1889. Centralbl. f. Bacteriol., 1889, V, S. 817. VI, S. 1.

2) Buchner, Ueber die nähere Natur der bacterientödtenden Substanz im Blutserum. Centralbl. f. Bacteriol., 1889, VI, S. 561.

3) Buchner (theilweise in Gemeinschaft mit Fr. Voit, G. Sittmann und M. Orthenberger), Untersuchungen über die bacterienfeindlichen Wirkungen des Blutes und Blutserums. Arch. f. Hyg., 1890, X, S. 84.

vernichtung anziehe und entschied, dass diese Manipulationen unschädlich seien.

Behring[1]) hatte nämlich im Jahre 1888 gefunden, dass das Blut der milzbrandimmunen Ratte den Milzbrandbacillus nicht wachsen lasse, was er mit der relativ starken Alkalität des Rattenblutes umso leichter in Zusammenhang brachte, als er fand, dass diese hemmende Wirkung durch Zusatz von Säuren beseitigt werden könne. Im Jahre 1889[2]) berücksichtigte er auch den Gehalt des Blutes an Kohlensäure, als eines möglichen Grundes für das gehinderte Wachsthum, sich dabei auf eine ähnliche Vermuthung von Gamaleïa[3]) stützend. Die Ansicht, dass die Bactericidie thierischer Flüssigkeiten durch die in ihnen enthaltene Kohlensäure bedingt sei, kehrt übrigens scharf formulirt bei de Christmas[4]) wieder.

Hingegen stellte Buchner fest, dass Dialyse das Serum seiner keimfeindlichen Eigenschaften beraubt, was auf den Verlust des normalen Salzgehaltes zu beziehen ist und daher in ähnlicher Weise auch durch Verdünnung mit destillirtem Wasser erzielt werden kann.

Als das im Serum wirksame Princip müssen Eiweisskörper betrachtet werden und »diese wirken nicht an sich auf die Bacterien, sondern nur soferne sie sich im »wirksamen Zustande« befinden«.

Die folgende Zeit wird weniger durch das Studium dieser activen Eiweisskörper des Serums charakterisirt, denen Buchner den Namen »Alexine« gab, als durch Angriffe auf ihre thatsächliche Existenz. Da diese Angriffe, widerlegt namentlich durch den Hinweis auf die Thatsache der Inactivirung, d. h. Zerstörung der bactericiden Kraft des Blutes bei 55°, nur noch

1) Behring, Ueber die Ursache der Immunität von weissen Ratten gegen Milzbrand. Centralbl. f. klin. Medic., 1888, Nr. 38.

2) Behring, Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. Zeitschr. f. Hyg., 1889, VI, S. 117.

3) Gamaleïa. Annales de l'Inst. Pasteur, 1888, II, S. 517.

4) De Christmas, Étude sur les substances microbicides du sérum et des organes d'animaux à sang chaud. Ann. de l'Institut, 1891, V, S. 487

historischen Werth haben, möge es genügen auf einige diesbezügliche Arbeiten von de Christmas[1]), Jetter[2])[3]), und Szekely[4]) hinzuweisen. Fodor[5])[6]), dessen aus dem Jahre 1890 herrührende Arbeit bemerkenswerthe Angaben über die Wirkungsweise des Blutes unter verschiedenen Umständen enthielt, scheint geneigt dem Alkalescenzgrade desselben eine grosse Bedeutung beizumessen, eine von Behring herrührende Ansicht; Fodor konnte durch Erhöhung der Alkalität des Blutes nicht nur eine Steigerung der mikrobiciden Kraft, sondern beim lebenden Thiere eine gewisse Beeinflussung der Infection erzielen (Milzbrand).[7]) Hierin schliesst sich Calabrese[8]) an, während Chor[9]) früher die Ergebnisse v. Fodor's nicht bestätigen konnte und auch Behring[10]) widersprochen hatte. In gewissem Sinne gehören hieher auch die Arbeiten von Emmerich, Tsuboi, Steinmetz und Löw[11]), deren Veröffentlichung eine Discussion

1) Siehe Anmerkung 4 auf Seite 291.

2) Jetter, Untersuchungen über die »bactericide« Eigenschaft des Blutserums. Arbeiten aus dem Gebiete der pathologischen Anatomie und Bacteriologie. Herausgegeben von Baumgarten, 1892, I.

3) Jetter, Ueber Buchner's »Alexine« und ihre Bedeutung für die Erklärung der Immunität. Centralbl. f. Bacteriol., 1893, XIV, S. 724.

4) v. Szekely, Beiträge zur Lehre von der sogenannten mikrobiciden Kraft des Blutes. Verhandlungen des 8. intern. Congr. f. Hyg. u. Demogr. v. 1.—9. Sept. 1894. Budapest 1896, S. 40—44.

5) v. Fodor, Neuere Untersuchungen über die bacterientödtende Wirkung des Blutes und über Immunisation. Centralbl. f. Bacteriol., 1890, VII, S. 753.

6) v. Fodor, De l'alcalinité du sang à la suite d'une infection. Verhandlungen des Congresses etc. Budapest 1896. S. 34.

7) v. Fodor, Ueber die Alkalicität des Blutes und Infection. Centralbl. f. Bacteriol., 1895, XVII, S. 224.

8) Calabrese, cit. nach Baumgarten's Jahresbericht, 1895, XI, S. 561.

9) Chor, Traitement du charbon pour le bicarbonate de soude, d'àprès la méthode de M. Fodor. Annales de l'Institut Pasteur, 1891, IX, S. 337.

10) Behring, Ueber Desinfection, Desinfectionsmittel und Desinfectionsmethoden. Zeitschr. f. Hyg., 1890, IX, S. 395 ff.

11) Emmerich, Tsuboi, Steinmetz und Löw, Ist die bacterientödtende Eigenschaft des Blutserums eine Lebensäusserung oder ein rein chemischer Vorgang? Centralbl. f. Bacteriol., 1892, XII, S. 364 ff., 417 ff., 449 ff.

zwischen Buchner[1]) und Emmerich und Tsuboi[2]) hervorrief.

Nur kurz möge auf Arbeiten von Stern[3]), Prudden,[4]) Tria[5]) u. A. hingewiesen sein, welche die keimtödtende Wirkung auch in anderen Gewebsflüssigkeiten nachwiesen, sowie auf Versuche, die wesentlich gegen die Behauptung gerichtet waren, dass es sich bei dem Absterben von Mikroorganismen im extravasculären Blute lediglich um Tödtung durch geänderte physikalische etc. Verhältnisse handle (Kionka,[6]) Szekely und Szanna[7]), Einwände, die mehr oder weniger schon im Jahre 1889 von Metschnikoff[8]) erhoben und von Buchner[9]) zurückgewiesen worden waren.

Auf die sehr zahlreichen Arbeiten, welche die bactericide Eigenschaft der Gewebssäfte mit der Immunität in Einklang zu bringen oder abzuweisen versuchen, kann natürlich nur insofern eingegangen werden, als sie geeignet sind, den Einfluss, welchen Bacterien auf die Serumalexine nehmen, zu beleuchten.

---

1) Buchner, Ueber die bacterientödtende Wirkung des Blutserums. Ebenda S. 855.

2) Emmerich und Tsuboi, Ueber die Erhöhung und Regeneration der mikrobiciden Wirkung des Blutserums. Ebenda XIII, S. 575

3) Stern, Ueber die Wirkung des menschlichen Blutes und anderer Körperflüssigkeiten auf pathogene Mikroorganismen. Zeitschr. f. klin. Medic. 1890, XVIII, S. 1.

4) Prudden, cit. nach Buchner. Arch. f. Hyg., Jubelband 1893, S. 114.

5) Tria, cit. nach Baumgarten's Jahresbericht, 1891, S. 495.

6) Kionka, Versuche über die bacterientödtende Wirkung des Blutes. Centralbl. f. Bacteriol., 1892, XII, S. 321.

7) v. Szekely und Szanna, Experimentelle Untersuchungen über die Veränderungen der sog. mikrobiciden Kraft des Blutes während und nach der Infection. Centralbl. f. Bacteriol., 1892, XII, Heft 2/3, S. 61; Heft 4/5, S. 139.

8) Metschnikoff in einer kritischen Besprechung, Annales de l'Institut Pasteur, 1890, III, S. 664.

9) Buchner, Ueber den Einfluss höherer Concentration des Nährmediums auf Bacterien. Centralbl. f. Bacteriol., 1889, VIII, S. 65.

Seit jeher hatte Lubarsch[1][2][3]) auf die Erscheinung aufmerksam gemacht, und Andere waren ihm in ähnlicher Weise gefolgt, dass das extravasculäre Blut eines Thieres bactericid auf einen Bacillus wirken kann, für den dasselbe Thier empfänglich ist, ja dass eine relativ kleine Menge Blutes in vitro weit mehr Bacillen zu tödten vermag als hinreichen, um das blutliefernde Thier selbst tödtlich zu inficiren. Dieses Missverhältnis, welches auf eine Verschiedenheit der bactericiden Wirkung innerhalb und ausserhalb des Körpers hinzuweisen schien, wurde von verschiedenen Seiten zu erklären versucht.

Buchner[4][5]) berichtete am Congresse zu London 1891 über Versuche, bei denen er Bacterien nicht direct ins Serum einsäte, sondern Wattebäuschchen mit Culturflüssigkeit tränkte und dann diese in das Serum einbrachte. Während die in der Controle frei zugefügten Bacterien abstarben, vermochten die anderen die Alexine des Serums allmählich zu überwinden und vermehrten sich reichlich.

Buchner führt diese Erscheinung darauf zurück, dass die Testbacterien in den tieferen Schichten des Wattepäckchens geschützt waren, während das Serum die an die Oberfläche tretenden Bacterien stets vernichtete, womit schliesslich eine Erschöpfung der Alexine verbunden war. Dadurch, dass ins Blut gelangte Bacterien im Capillargebiete mit geringem Serumzuflusse stehen bleiben, entgehen sie der Vernichtung und vermehren sich. Ist aber die Vermehrung einmal erfolgt, so kann das bactericide Vermögen des Blutes nicht mehr genügen, da »jede

1) Lubarsch, Ueber die bacterienvernichtenden Eigenschaften des Blutes und ihre Beziehungen zur Immunität. Centralbl. f. Bacteriol., 1889, VI, Nr. 18/19, S. 481; Nr. 20, S. 529.

2) Lubarsch, Untersuchungen über die Ursachen der angeborenen und erworbenen Immunität, 1891. Berlin, Hirschwald.

3) Lubarsch, Zur Theorie der Infectionskrankheiten. In: Zur Lehre von den Geschwülsten und Infectionskrankheiten, 1899. Wiesbaden, Bergmann.

4) Buchner. Im Referat über den Londoner Congress. Centralbl. f. Bacteriol., 1891, X, S. 710. 711.

5) Buchner, Die Forschungsmethoden in der Immunitätsfrage. Centralbl. f. Bacteriol., 1891, X, S. 727.

Volumeinheit eines bestimmten Blutes oder Serums nur eine beschränkte Zahl von Bacterien bestimmter Art zu tödten vermag«. Von dem Gedanken ausgehend, dass es sich nicht um einfache »Erschöpfung der Alexine« beim Unwirksamwerden von Körperflüssigkeit durch Bacterien handle, veranlasste Buchner die Versuche von Schneider[1]).

Schneider setzte dem zu prüfendem Blute oder Serum sterilisirte, filtrirte oder nicht filtrirte Bouillonculturen zu und fand, dass dadurch die Alexinwirkung im Vergleich mit entsprechend hergestellten Controlproben vermindert sei. Die Alexine werden also durch die Zersetzungsproducte der Bacterienzelle geschädigt; ob »die Stoffwechselproducte, die Ptomaine und Toxalbumine oder aber die Leibessubstanzen der Bacterien selbst, die Bacterien-Protëine« das Wirksame seien, lässt Schneider unentschieden.

Auch auf andere Weise versuchte man es, die von Lubarsch hervorgehobenen Widersprüche auszugleichen.

Hieher gehört die Beobachtung von Behring und Nissen[2]), dass mit der Erlangung von Immunität das Blut von Meerschweinchen bactericide Eigenschaften, dem V. Metschnikoff gegenüber, annimmt, welche dem von normalen Thieren nicht zukommt, eine Thatsache, die Metschnikoff[3]) ein Jahr darauf bestätigte.

Andere Untersucher suchten durch Beobachtung des Verhaltens der Bactericidie im Verlaufe einer Infection Aufschluss zu erhalten.

Charrin und Roger[4]) fanden, dass im Blute und Serum von mit Pyocyaneus inficirten Kaninchen ein weit schlechteres

---

1) Schneider, Einfluss von Zersetzungsstoffen auf die Alexine. Arch. f. Hyg., 1897, XXVIII, S. 93.

2) Behring und Nissen, Ueber bacterienfeindliche Eigenschaften verschiedener Blutserumarten. Zeitschr. f. Hyg, 1890, VIII, S. 412.

3) Metschnikoff, Études sur l'immunité. 4. mémoire. Annales de l'Institut Pasteur, 1891, V, S. 465.

4) Charrin und Roger, Action du sérum des animaux malades ou vaccinées sur les microbes pathogènes. Bei Szekely und Szanna, Nr. 46.

Wachsthum des Pyocyaneus stattfinde als in dem gesunder. Lubarsch[1]) hingegen constatirte, dass 8 Stunden oder noch etwas früher, nach erfolgreicher Anthraxinfection, das Kaninchenblut unwirksam geworden sei. Ganz entgegengesetzt fanden v. Szekely und Szanna[2]), dass im Blute milzbrandkranker Kaninchen noch bactericide Einwirkungen vorhanden sind und erst schwinden, sobald die wuchernden Bacillen den Kreislauf überschwemmt haben. Aehnlich lagen die Verhältnisse für den Staphylococcus. Injicirten sie hingegen dichte Aufschwemmungen von Choleravibrionen, so verlor das Blut seine mikrobicide Kraft, die es aber in erhöhtem Grade wiedergewann, sobald das Versuchsthier sich erholt hatte und die Choleravibrionen aus dem Kreislaufe verschwunden waren. Bastin[3]) fand, dass nach Injection grosser Bacterienmengen die bactericide Kraft des Blutes binnen wenigen Minuten rapid abnimmt und zwar um so stärker je mehr Bacterien eingespritzt wurden. Da die gleichen Resultate erhalten werden, ob man nun lebende, durch Chemikalien oder durch Hitze abgetödtete Culturen verwendet, so muss es sich dabei um eine Einwirkung der Zellen selbst auf das Blut handeln. Uebrigens wird schon wenige Stunden später das normale Verhalten wiederhergestellt. Im Gegensatz zu Nissen fand Bastin, dass ein durch Bacterienüberschwemmung unwirksam gewordenes Blut auch andersartigen, als den injicirten Microben gegenüber an keimvernichtender Kraft verloren habe. Deny's und Kaisin[4]), die sich eingehend mit der Widerlegung der Angriffe Jetters befassten, bestätigten die Hauptergebnisse von Bastin, zeigten, dass auch durch Zusatz todter Bacterien zum extravasculären Blute das bactericide Vermögen leide und dass das Hundeserum, welches an sich dem Milzbrandbacillus

1) a. a. O. Nr. 50, S. 136.

2) a. a. O. Nr. 46.

3) Bastin, Contribution à l'étude du pouvoir bactéricide du sang. La Cellule, 1892, VIII, S. 383.

4) Denys und Kaisin, Recherches à propos des objections récemment élevées contre le pouvoir bactéricide du sang. La Cellule, 1893, IX, S. 335.

gegenüber so gut wie inoffensiv ist, mikrobicid wird nach stattgehabter Infection. Aehnliches fand Gatti[1]) bei Infection von Kaninchen mit Pneumococcus und Anthrax. Bezüglich der Pneumococceninfection beim Menschen hatte Rovighi[2]) 1890 gefunden, dass dabei die keimtödtende Kraft des Blutes gegenüber Staphylococcen, Pneumococcen und Typhusbacillen herabgesetzt sei.

Die Arbeit von Bonaduce[3]) knüpft an die gehaltvollen, theoretischen Erwägungen von Kruse an.[4]) Sollen Mikroorganismen im Blute lebender Thiere wachsen, so müssen sie im Stande sein, sich der hier angehäuften und stets erneuten Schutzstoffe, der Alexine, zu erwehren. Dazu dienen ihnen »specifische Producte, denen die Eigenschaft zukommt, die Alexine zu neutralisiren«; diese Stoffe nennt Kruse »Lysine«, für deren specifische Natur die Versuche Nissens zu sprechen scheinen, die aber noch näher erwiesen werden muss.

Als Lysinwirkung bezeichnet nun Bonaduce die Wirkung von abgetödteten Milzbrandbacillen, die einer Probe von Kaninchenserum zugesetzt, das Wachsthum neu eingesäter begünstigt. Diese Versuche werden am Schlusse der Arbeit kritisch besprochen werden müssen.

Lubarsch[5]) vertritt demgegenüber in seiner neuesten Arbeit, gestützt auf eigene und theilweise auf die Versuche Rosatzin's[6]), seine frühere Ansicht, nach welcher für die Beziehung

---

1) Gatti, Riforna medica, 1893, cit. nach Baumgarten's Jahresbericht, IX, S. 595.

2) Rovighi, Sull' azione microbicida del sangue in diverse condizioni dell' organismo. Rif. medic., 1890, Nr. 10.

3) Bonaduce, Ueber Beziehungen des Blutserums von Thieren zur natürlichen Immunität. Ziegler's Beiträge, 1893, XII, S. 353.

4) Kruse, Bemerkungen über Infection, Immunität und Heilung. Ziegler's Beiträge, 1893, XII, S. 333.

5) Lubarsch a. a. O. Nr. 51, S. 209 ff.

6) Rosatzin, Untersuchungen über die bacterientödtenden Eigenschaften des Blutserums und ihre Bedeutung für die verschiedene Widerstandsfähigkeit des Organismus. In Lubarsch: Zur Lehre von den Geschwülsten und Infectionskrankheiten. Wiesbaden 1899, S. 75 ff.

der bactericiden Eigenschaften des Blutserums zur Widerstandsfähigkeit gegen Infectionen beweiskräftige Thatsachen nicht vorliegen.

Die Beobachtungen zahlreicher Autoren über das Verhalten der Bactericidie bei verschiedenen körperlichen Zuständen (Entmilzung, Hunger, Vergiftung etc.) können, als dem Zwecke vorliegender Arbeit ferner stehend, übergangen werden. Hingegen mögen die Ergebnisse, welche die Untersuchung nach der näheren Natur der Alexine brachte, kurz erwähnt sein.

Buchner[1])[2]), dessen grösseren 1893 veröffentlichten Arbeiten mehrere kleinere Mittheilungen vorangegangen waren, betonte nochmals, unter Anführung seines bereits citirten Watterserumversuches, die Beziehungen zwischen Serum und Menge der in dasselbe eingebrachten Bacterien, studirte die globulicide Eigenschaft des Serums, die er wegen ihrer Uebereinstimmung im Verhalten gegen Hitze, Luft, Licht etc. mit der bactericiden in Verbindung zu bringen geneigt ist, versuchte die active Substanz durch Ausfällen der Eiweisskörper zu isoliren und studirte schliesslich in ungemein mühevollen Versuchen den Einfluss, welchen die Anwesenheit von Neutralsalzen und von Trocknung auf die Wirksamkeit der Alexine und anderer mehr oder weniger labiler Körper ausübt.

Dass die keimtödtende Wirkung sich auch auf die Dauerformen erstrecken könne, bewiesen Peckelharing[3]) hauptsächlich im Thierkörper, Lecleff[4]) und Halban[5]); auch Buchner und Lubarsch hatten sich davon überzeugen können.

---

1) Buchner, Weitere Untersuchungen über die bacterienfeindlichen und globuliciden Wirkungen des Blutserums. Arch. f. Hyg., 1893, Jubelband für Pettenkofer, S. 112.

2) Buchner, Ueber den Einfluss der Neutralsalze auf Serumalexine, Enzyme, Toxalbumine, Blutkörperchen und Milzbrandsporen. Ebenda S. 138.

3) Peckelharing, La propriété bactéricide du sang. La semaine médic., 1892, p. 503.

4) Lecleff, Étude sur l'action sporicide des humeurs. La Cellule, 1894, X, S. 349.

5) Halban, Recherches sur l'action sporicide du sérum. Annales de l'Institut Pasteur, 1898, XII, no. 7, p. 417.

Die Arbeit von Vaughan und Mc. Clintock[1]) behauptete die Nucleïnnatur der germiciden Substanz des Blutserums; in der That gelang es den Verfassern, aus grossen Serummengen ein Nucleïn mit keimschädlichen Eigenschaften herzustellen. Präparate, die ein ebensolches Vermögen aufwiesen, waren aus Organen schon früher von Hankin[2]) und de Christmas[3]) hergestellt worden, und Bitter[4]) unterzog sich der Aufgabe, die Angaben beider Untersucher nachzuprüfen.

Diese Arbeiten können den Uebergang bilden zu denen, welche die jüngste Zeit der diesbezüglichen Forschung charakterisiren und welche, so gut wie ausschliesslich, die Frage nach der Herkunft der Alexine behandeln. Ein ganz natürlicher Entwicklungsgang, da ja die keimwidrigen Blutstoffe, sollen sie überhaupt im Organismus eine Bedeutung haben, fortwährend einer Erneuerung bedürfen und diese Erneuerung nur von Zellen ausgehen kann.

Schon zu einer Zeit, wo die humorale und die zwar cellulare, aber ausschliesslich phagocytär gedeutete Theorie Metschnikoff's einander noch ganz unvermittelt gegenüberstanden, forderte Hueppe[5]), dass man neben der chemisch-humoralen Theorie die biologisch-cellulären Thatsachen nicht ausser Acht lassen dürfe. Eine gewisse Verschmelzung der ursprünglichen rein humoralen mit der rein phagocytären Anschauung wurde durch die Arbeiten der letzten Zeit, welche die Herkunft der Alexine von Leukocyten ableiten, angebahnt. Freilich gestatten die sehr zahlreichen, dieses Thema behandelnden Versuche (Hankin, Buchner, Massart und Bordet, Denys, Denys und Havet, Havet, van de Velde, Hahn, Schattenfroh,

1) Vaughan and Mc. Clintock, The nature of the germicidal constituents of blood serum. Medical news, 1893. Autoreferat in Centralbl. f. Bacteriol., 1894, XV, S. 520.

2) Hankin, cit. bei Bitter.

3) de Christmas, a. a. O. Nr. 28, S. 504.

4) Bitter, Ueber die bacterienfeindlichen Stoffe thierischer Organe. Zeitschr. f. Hyg., 1892, XII, S. 328.

5) Hueppe, Fortschritte der Medicin, 1890, VIII, Nr. 13.

Bail, Däubler) noch nicht, ein absolut unzweideutiges Resultat zu ziehen.

II. Versuche über die Einwirkung lebender Bacterien auf die Alexine des Serums.

Aus dem Ueberblicke über die wichtigste Literatur des Gegenstandes sind folgende Momente bekannt geworden, die auf eine Beeinflussung der Serumalexine durch lebende Mikroorganismen hinweisen:

1. Je grösser die Zahl der Bacterien ist, welche einem Serum zugesetzt werden, um so weniger tritt eine abtödtende Wirkung desselben hervor.
2. Verschiedene Bacterienarten verhalten sich in ein und demselben Serum sehr verschieden.
3. Durch Injection grosser Mengen lebender Bacterien in das Gefässsystem sinkt die bactericide Kraft des nachträglich entnommenen Blutes.
4. Wenn Mikroorganismen dem directen Zutritte alexinhaltigen Serums einigermaassen entzogen sind, so können sie, wie im Buchner'schen Wattaversuche, die Alexine zerstören.
5. Nach den Versuchen von Schneider ist die Möglichkeit vorhanden, dass lebende Bacterien vermittelst ihrer Stoffwechselproducte die Alexinwirkung des Blutes oder des Serums zum Schwinden bringen können.
6. Zusatz abgetödteter Bacterien zum extravasculären Blute oder Serum begünstigt die Entwicklung frisch eingesäter lebender Bacterien (Bonaduce, Denys und Kaisin).

Einigermaassen im Widerspruche scheinen damit die Versuche von Szekely[1]) zu stehen, welcher Serum mit lebenden Bacterien inficirte, dasselbe dann 24 Stunden sich selbst überliess, wobei nach Maassgabe der Plattenculturen Vermehrung stattgefunden hatte, sodann keimdicht filtrirte und die Filtrate neuerdings zur Aussaat verschiedener Mikroorganismen verwendete.

---

1) Siehe Anmerkung 4 auf S. 292.

Hier waren offenbar alle Bedingungen für ein Unwirksamwerden des Serums durch die Bacterien gegeben. Denn da die ersteingebrachten Keime sich vermehrt hatten, mussten sie die Alexine erschöpft haben, sei es durch ihre Stoffwechselproducte oder auf irgend eine andere Weise.

Dennoch fand v. Szekely ein derart behandeltes Serum gegenüber allen darauf hin untersuchten Bacterien noch wirksam.

Die von v. Szekely eingeschlagene Methode schien am aussichtsreichsten zu sein, um über die Beeinflussung der Alexine durch Mikroben einiges Licht zu verbreiten. Zuvor aber sollte untersucht werden, wie sich die Alexinwirkung bei verschiedenen Temperaturen äussert, wie es übrigens schon mehrfach bestimmt worden ist. Denn wenn auch ein 24 Stunden langer Aufenthalt bei 37°, als dem Wachsthumsoptimum pathogener Mikroorganismen, die Alexine in der Regel nicht zerstört, so hat man doch häufig Gelegenheit, eine Abschwächung derselben im Vergleich zu kühl aufbewahrtem Serum zu beobachten.

Tabelle I.

4 Röhrchen mit je 2 ccm Kaninchenserum werden reichlich mit Vibrio cholerae besät und theils bei Zimmertemperatur, theils in der Kälte aufbewahrt. Einsaatgrösse: 70000.

	Nach 3 h	Nach 6 h	Nach 24h
I. Bei ca. 17°	13	4	724
	22	3	820
II. Bei 6°	1 608	1 216	648
	2 774	968	620

Tabelle II.

6 Röhrchen mit Kaninchenserum zu je 2 ccm werden mit Vibrio cholerae besät und theils bei 37°, theils bei Zimmertemperatur, theils in der Kälte gehalten. Einsaatgrösse: 35260.

	Nach 2 h	Nach 4 h	Nach 8 h	Nach 24h
1. Bei 37°	4	0	0	0
	1	0	0	0
2. Bei 17°	91	9	0	0
	106	2	5	0
3. Bei 2°	18 370	10 720	7 660	2 770
	16 840	13 780	7 670	2 430

Die Versuche bestätigen die Beobachtung, dass eine bactericide Wirkung zwar bei jeder Temperatur auftritt, dass sie aber in der Wärme weitaus energischer erfolgt.

Die Bedeutung, namentlich des zweiten Versuches, liegt aber noch in einem anderen Momente. Es wurden nämlich die bisher in der Kälte aufbewahrten Proben nach 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach im Ganzen 26 Stunden waren dann noch 0 bezw. 5 Keime vorhanden, nach 29 Stunden aber lieferten die Platten 13 bezw. 217 Colonien, und von da ab fand fortschreitende Vermehrung statt.

Trotzdem also die Temperatur, bei welcher das Serum aufbewahrt wurde, zur Erhaltung seiner Activität günstig war, trotzdem eine Lebensäusserung der Vibrionen bei 2° nicht stattgefunden haben konnte, war in diesem Falle die Alexinwirkung sehr wesentlich geschwächt worden. In der Regel ist übrigens beim Choleravibrio dazu eine grössere Einsaat nothwendig.

Ehe dieses Resultat weiter verfolgt wurde, wurden erst eine Anzahl von Versuchen unternommen, bei denen im Anschlusse an v. Szekely Bacterien sehr reichlich in Serumproben eingebracht wurden, bis sie sich üppig vermehrt hatten. Dann wurde filtrirt und die Filtrate neuerdings verwendet.

Tabelle III.

Zu Kaninchenserum werden 2 Agarculturen von Vibrio cholerae zugesetzt, die sich ohne Weiteres vermehren. Danach wird durch Berkefeldfilter filtrirt und die völlig klaren Filtrate neuerdings besät. Vorher war durch das gleiche Filter eine Quantität sterilen Serums filtrirt worden, die als Controle diente.

		Sofort nach Einsaat	Nach 1 h	Nach 3 h	Nach 6 h
Einsaat B. typhi	1. Je 2 ccm Cholerafiltrat	2 616	2 648	1 008	19 900
		2 948	2 536	1 776	41 340
	2. 2 ccm steril. Filtrat	1 552	896	348	13 780
Einsaat V. chol.	3. Je 2 ccm Cholerafiltrat	2 614	3 152	4 080	102 580
		2 872	3 408	5 440	171 470
	4. 2 ccm steril. Filtrat	2 560	1 048	936	30 620

Es ist unnütz, weitere Versuchstabellen anzuführen, da sie alle mehr oder weniger das gleiche Resultat lieferten. Die Angaben v. Szekely's konnten in exacter Weise weder bestätigt noch widerlegt werden, da ein jedes der benutzten Filtersysteme (Chamberlandkerzen, Thonfilter nach Reichel, Kieselguhrkerzen nach Nordtmeier-Berkefeld) auch die Alexine eines normalen Serums ganz oder zum grössten Theile zurückhielt. Ohne die sichere Controle eines solchen aber erschienen weitere Versuche als werthlos.

III. Die Aufhebung der Serumwirkung durch Zusatz abgetödteter Bacterien.

Das Resultat des in der II. Tabelle mitgetheilten Versuches liess es als aussichtsvoll erscheinen, einen anderen Weg zum Studium des Einflusses der Mikroorganismen auf die Alexine einzuschlagen. Denn wenn in der That, wie in diesem Versuche, der Ausfall der nach 29 Stunden und später angelegten Platten erkennen lässt, dass die bactericide Wirkung des Serums so wesentlich geschwächt war, so konnte es nur der Contact der Bacterienleiber mit den Alexinen sein, der diese Wirkung hervorgebracht hatte. Ein Wachsthum der verwendeten Vibrionen bei $+2^0$ war ja ebenso gut wie eine Secretion von Stoffwechselproducten auszuschliessen.

Es lag daher nahe, statt dem Serum lebende Bacterien zuzusetzen und diese dann unter Bedingungen zu bringen, welche eine Weiterentwicklung nicht gestatteten, von vornherein abgetödtete Culturen auf das Serum einwirken zu lassen, ähnlich wie Bonaduce, Denys und Kaisin es im Jahre 1893 versucht hatten.

Schon der erste, mit Meerschweinchenserum angestellte Versuch lieferte ein vollkommen unzweideutiges Resultat.

Tabelle IV.

Meerschweinchenserum in 2 Hälften zu je 4 ccm wird theils mit durch Chloroform getödteten, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten Choleravibrionen (2 Agarculturen in $1^1/_2$ ccm NaCl-Lösung), theils mit der entspre-

chenden Menge steriler NaCl-Lösung versetzt. Die Proben stehen über Nacht in der Kälte, werden dann in je 2 Hälften getheilt und inficirt.

	Sofort	Nach 1 h	Nach 2 h	Nach 3 h	Nach 6 h
a) Einsaat V. cholerae.					
1. Choleraserum . .	4 048	2 568	4 136	6 592	∞
2. Normales Serum .	3 184	42	29	25	0
b) Einsaat Staphylococcus.					
3. Choleraserum . .	3 240	2 992	2 608	1 928	4 280
4. Normales Serum .	2 424	3 192	2 496	2 160	1 936

Es hat also in dem, mit todten Bacterien versetzten Serum besonders der Choleravibrio wachsen können, ohne mehr als eine vorübergehende Entwicklungshemmung durchmachen zu müssen.

Die folgenden Versuche sind ausschliesslich mit Kaninchenserum angestellt worden. Die Thiere wurden aus der, unter aseptischen Maassnahmen freigelegten Carotis meist ganz verblutet, und das über Nacht im Eisschrank abgeschiedene Serum wurde in der weitaus grössten Mehrzahl der Fälle ganz frisch verwendet.

Die Bestimmung der bactericiden Kraft, bezw. die des Sinkens der Alexinwirkung geschah nach den bewährten Regeln der oft beschriebenen Buchner'schen Methode.

Was die Aussaat der zu untersuchenden Bacterien betrifft, so wurde dieselbe in der Regel klein genommen, da der Zweck der Versuche darin bestand, das Verschwinden der Alexinwirkung zur Anschauung zu bringen. Je geringer die Keimabnahme bei der kleinen Anzahl der eingebrachten Mikroorganismen ausfiel, um so deutlicher musste die Unwirksamkeit der betreffenden Serumproben hervortreten. — Die meist zu den Versuchen verwendeten Bacterien (Staphylococcus pyogenes aureus, Bacillus pyocyaneus, Bacillus typhi und Vibrio cholerae) wurden jungen, höchstens 24 Stunden alten Agarculturen entnommen und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Die seiner Zeit von Buchner[1]) bei Anwendung von Culturen auf festen Nährböden hervorgehobene Schwierigkeit der gleichmässigen Vertheilung der Bacterienmasse lässt sich leicht umgehen, wenn man nach Einbringung der Culturtheilchen in physiologische Kochsalzlösung einige Zeit zuwartet. Schüttelt man dann, so kann man makroskopisch sehen, wie sich die Klümpchen der zusammenhängenden Bacterienmasse gleichmässig in eine Trübung der Gesammtflüssigkeit auflösen. Ein mikroskopisches Präparat zeigt dann gleichfalls das Fehlen von Haufenbildung an.

Die erste Aufschwemmung wird dann, je nach Bedarf, weiter verdünnt, und man erlangt bei fortdauernder Arbeit mit den gleichen Mikroorganismen sehr bald die erforderliche Uebung, um annähernd immer gleich grosse Einsaaten herzustellen.

Was die Zeiten der Entnahme von Proben zur Plattenaussaat betrifft, so handelte es sich im gegebenen Falle immer nur um kurze Fristen. Denn waren die Keime wirklich unwirksam geworden, so durfte eine Entwicklungshemmung oder auch eine geringfügige Keimabnahme nur in den ersten Stunden erfolgen, um dann einer fortschreitenden Vermehrung Platz zu machen, oder es musste sofortige Entwicklung zu constatiren sein. Aus dem gleichen Grunde war in späteren Versuchen nur eine einzige Controle des Verhaltens der Bacterien im Serum erforderlich.

Tabelle V.

(Verkürzt wiedergegebener Versuch.)

Kaninchenserum mit durch Chloroform getödteten Choleravibrionen versetzt. Die Proben standen vor der Einsaat 24 Stunden bei Zimmertemperatur. Einsaat: Vibrio cholerae.

	Sofort	Nach 2 h	Nach $3^1/_2$ h
1. 2 ccm Serum mit todten Vibrionen	2 016	2 512	14 000
	2 424	3 936	17 450
2. 2 ccm Normalserum	1 280	13	1

1) Siehe Anmerkung 3 auf Seite 290.

Auch die Wirksamkeit des Kaninchenserums wird somit durch Zusatz todter Bacterien geschädigt, was bei diesem hochwirksamen Serum sehr deutlich hervortritt.

Weiterhin war es nothwendig festzustellen, welchen Einfluss die Tödtungsart der dem Serum zugesetzten Mikroorganismen hat. Da schon nach den ersten Versuchen vermuthet werden musste, dass es die Leibessubstanz der Bacterien sei, welche die tiefgehende Alteration der Serumalexine verursacht, so war es, nach anderen vorliegenden Erfahrungen nicht ausgeschlossen, dass diese Alteration, je nach der Schwere des Eingriffes, denen die zu tödtenden Bacterien ausgesetzt worden waren, verschieden stark ausfallen werde. Hierher gehören namentlich die Angaben von Pfeiffer[1]), wonach die Wirkungsweise abgetödteter Choleravibrionen auf Thiere, je nach der Sterilisirungsmethode, eine sehr verschiedene sein kann.

Nach einigen nicht entscheidenden Versuchen ergab sich jedoch, dass es ziemlich gleichgültig ist, ob zur Tödtung der Versuchsbacterien diese oder jene Methode (leicht entfernbare, chemische Desinficientien, vorsichtiges Erwärmen oder Erhitzen auf 100°) angewendet wird.

Dies beweist der in der folgenden Tabelle angeführte Versuch, bei welchem den Controlproben unlösliches, feinstes Ultramarinpulver zugesetzt wurde, um zu sehen, ob nicht etwa die blosse Berührung mit fein vertheilten, corpusculären Elementen an sich genügt, um eine Schwächung der bactericiden Serumwirkung herbeizuführen. Bouillon oder erhitztem Serum zugesetzt, hinderte die Ultramarinaufschwemmung das Bacterienwachsthum nicht.

Tabelle VI.

Kaninchenserum wird mit Agarculturen von Vibrio cholerae, die in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und theils durch Chloroform, theils durch Erhitzen auf 100° getödtet sind, versetzt. Die Controlproben erhalten

---

1) Pfeiffer R., Untersuchungen über das Choleragift. Zeitschr. f. Hyg., 1892, XI, S. 392.

die entsprechende Menge feinster Ultramarinaufschwemmung, ebenfalls in physiologischer NaCl-Lösung.

	Sofort	Nach $1^1/_2$ h	Nach 3 h
a) Einsaat: V. cholerae.			
1. 2 ccm Serum u. Chloroformcholera	952	944	3 670
2. 2 ccm Serum u. Hitzecholera . .	696	864	2 712
3. 2 ccm Serum u. Ultramarin . . .	616	0	9
b) Einsaat: Bact. coli.			
1. 2 ccm Serum u. Chloroformcoli .	2 784	2 864	6 400
2. 2 ccm Serum u. Hitzecoli . . .	3 612	2 368	4 260
3. 2 ccm Serum u. Ultramarin . . .	2 632	1 664	1 144

Tabelle VII.

Kaninchenserum mit Choleraagarculturen versetzt, die theils mittels Aether, theils durch Hitze von 100° abgetödtet waren. Einsaat: Vibrio cholerae.

	Sofort	Nach 2 h	Nach 4 h	Nach 7 h
1. Je 2 ccm Serum mit Aether-cholera	688 720	552 784	7 240 8 016	45 300 61 330
2. Je 2 ccm Serum mit Hitze-cholera	880 632	968 940	9 440 10 416	75 230 80 140
3. 2 ccm Normalserum . . .	488	472	157	83

Man kann aus diesen, auszugsweise mitgetheilten Versuchsprotokollen mit Sicherheit schliessen, dass die Einwirkung höherer Temperaturgrade nicht im Stande ist, die Mikroorganismen ihrer alexinparalysirenden Eigenschaft zu berauben. Auch durch stundenlanges Verweilen im siedenden Wasserbade lässt sich dies bei den, als Serumzusatz bestimmten Bacterien nicht erreichen.

Die hitzebeständigen Antheile der Bacterienzellen, denen man darnach die Wirkung auf die Serumalexine zuschreiben müsste, fasst man kurz als Bacterienprotëine zusammen und Buchner[1]) hat zu ihrer Darstellung mehrere Methoden angegeben.

Eine einfache Darstellungsweise, die für die vorliegenden Versuche den Vortheil darbot, den Zusatz aller, etwa antiseptisch

1) Bucher, Berl. klin. Wochenschrift, 1890, S. 1084.

wirkenden Mittel zu vermeiden, besteht darin, dass man die von einem festen Nährboden abgestreiften Culturmassen, mit oder ohne vorherige Trocknung, in Wasser aufschwemmt, längere Zeit am Sandbade, unter Anwendung eines Kühlers, oder im gespannten Dampfe erhitzt und nachträglich die ausgelaugten Zellreste vermittels keimdichter Filter entfernt.

Jedoch waren die Resultate, welche durch Zusatz derartiger Proteïnlösungen zum Serum gewonnen wurden, so schwankend, dass es weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben muss, hierüber Klarheit zu gewinnen. Folgende Beispiele mögen dies illustriren.

Tabelle VIII.

Kaninchenserum mit verschiedenen Mengen von Prodigiosusproteïn versetzt. Dasselbe war aus Kartoffelculturen hergestellt, die, in Wasser vertheilt, am Sandbade stundenlang gekocht worden waren. Die nachfolgende Filtration durch Berkefeldfilter lieferte eine schwach gelbliche Flüssigkeit, die auf den 10. Theil eingedampft und dann nochmals sterilisirt wurde.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 7 h
a) Einsaat Staphylococcus.			
1. 2 ccm Serum mit 0,05 Proteïn	896	7	544
	832	5	128
2. 2 ccm Serum mit 0,1 ccm Proteïn	856	13	1 924
	912	8	224
3. 2 ccm Serum mit 0,2 ccm Proteïn	880	640	47 000
4. 2 ccm Serum mit 0,2 ccm Bouillon	928	11	112
b) Einsaat Bac. prodigiosus.			
1. 2 ccm Serum mit 0,05 ccm Proteïn	1 448	31	124
	1 600	29	39
2. 2 ccm Serum mit 0,1 ccm Proteïn	1 568	46	109
	2 064	220	86
3. 2 ccm Serum u. 0,2 ccm Proteïn	1 312	328	658
4. 2 ccm Serum u. 0,2 ccm Bouillon	1 152	320	∞

Es schien demnach, als ob wenigstens der Staphylococcus in seinem Wachsthume durch den Zusatz von 0,2 ccm Prodigiosusproteïn begünstigt worden wäre. Es ist aber unmöglich, daraus bestimmte Folgerungen abzuleiten, da der Prodigiosus durch den gleichen Zusatz eher gehemmt wurde.

Tabelle IX.

(Verkürzt wiedergegebener Versuch.)

Kaninchenserum mit Staphylococcenprotein versetzt. Dieses wurde aus in Wasser suspendirten Agarculturen hergestellt, die in einer Druckflasche im Oelbade bis 130° erhitzt wurden. Das Proteïn wurde theils durch Berkefeldfilter filtrirt, theils unfiltrirt verwendet. Einsaat: Staphylococcus.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 9 h
1. 2 ccm Serum mit 0,05 filtr. Proteïn	1 848	4	431 000
	1 600	2	574 300
2. 2 ccm Serum mit 0,05 nicht filtr. Proteïn	1 376	1 048	ca. 1 Mill.
	1 104	616	dgl.
3. 2 ccm Serum mit 0,05 Bouillon	1 344	1	184 200

Tabelle X.

Kaninchenserum mit dem gleichen Proteïn versetzt wie in Tab. IX. Der Versuch wurde 2 Tage später als der vorige angestellt, während welcher Zeit das Proteïn kühl aufbewahrt worden war. Einsaat: Staphylococcus.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. 2 ccm Serum u. 0,025 ccm filtr. Proteïn	218	7	4
2. 2 ccm Serum u. 0,05 ccm filtr. Proteïn	211	4	17
3. 2 ccm Serum u. 0,1 ccm filtr. Proteïn	185	1	3
4. 2 ccm Serum u. 0,025 nicht filtr. Proteïn	294	7	6
5. 2 ccm Serum u. 0,05 nicht filtr. Proteïn	348	5	3
6. 2 ccm Serum u. 0,1 nicht filtr. Proteïn	213	48	172
7. 2 ccm Serum u. 0,1 ccm Bouillon	280	2	0

Infolge dieser Inconstanz der Befunde war das Ergebnis einer langen Versuchsreihe, bei welcher auch die auf gleiche oder ähnliche Weise hergestellten Proteine von Bacillus pyocyaneus, Bacterium coli commune, Vibrio cholerae verwendet wurden, gleich Null.

Dennoch ist es nicht unwahrscheinlich, dass es gelingen wird, mit Auslaugungen von Bacterienzellen die gleiche Wirkung zu erzielen wie mit den sterilisirten Bacterienleibern.

Die Art der Herstellung, Aufbewahrung etc. solcher Flüssigkeiten sind möglicher Weise von grossem Einflusse.

IV. Quantitative Verhältnisse.

Der Hauptzweck, der mit dem Versuche der Einführung von Proteinlösungen hätte erreicht werden sollen, bestand, von dem theoretischen Interesse abgesehen, in der Möglichkeit einer genauen Feststellung der quantitativen Verhältnisse. Da sich dies mit Proteinen nicht erreichen liess, galt es zu ermitteln, welches Mindestmaass abgetödteter Bacteriencultur nothwendig sei, um eine bestimmte Serummenge unwirksam zu machen.

Tabelle XI.

Kaninchenserum. Zugesetzt werden verschiedene Mengen von Aufschwemmungen je einer 24 Stunden alten Agarcultur in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung, die durch 1/2 stündigen Aufenthalt im siedenden Wasserbade abgetödtet worden waren. Einsaat: Staphylococcus.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 8 h
1. 2 ccm Serum u. 1/4 ccm steril. Staphylococcen-Aufschwemmung	2 496	2 864	675 300
	1 440	1 888	720 000
2. 2 ccm Serum u 1/2 ccm steril. Staphylococcen-Aufschwemmung	2 128	3 140	800 000
	2 992	2 816	1 120 000
3. 2 ccm Serum u. 3/4 ccm steril. Staphylococcen-Aufschwemmung	2 416	2 240	üb. 1 Mill.
	2 592	2 880	dgl.
4. 2 ccm Serum u. 1/4 ccm steril. Prodigiosus-Aufschwemmung	2 800	193	2 560
	2 688	65	1 824
5. 2 ccm Serum u. 1/2 ccm steril. Prodigiosus-Aufschwemmung	2 208	360	114 300
	3 456	408	97 000
6. 2 ccm Serum u. 3/4 ccm steril. Prodigiosus-Aufschwemmung	?	2 224	270 000
	1 952	1 344	300 560
7. 2 ccm Serum u. 1/4 ccm physiol NaCl-Lösung	2 080	2	113
8. 2 ccm Serum u. 3/4 ccm physiol. NaCl-Lösung	2 328	28	21 200
9. 2 ccm Serum u. 3/4 ccm physiol. NaCl-Lösung 1/2 Std. auf 60° erhitzt.	1 920	1 920	763 000

Der vorstehend mitgetheilte Versuch zeigt deutlich an:

1. Dass infolge des Zusatzes von durch Hitze von 100° abgetödteten Bacterien, die in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, entweder gar keine oder doch

nur verschwindend kleine Mengen von gelösten Stoffwechselproducten enthalten haben konnten, die Serumalexine nicht mehr zur Wirkung gelangten, so dass sich die, in relativ geringer Zahl eingebrachten lebenden Bacterien nicht anders wie im inactivirten Serum vermehrten.

2. Dass die Wirkungsweise verschiedener todter Bacterienarten bei Einsaat der gleichen Mikroorganismen eine quantitativ ungleiche sein muss, indem die Aufschwemmungen todter Prodigiosusbacillen die Wirksamkeit des Serums ungleich weniger stark beeinflusst hatten, als die entsprechenden Mengen sterilisirter Staphylococcen.
3. Dass mit Zusatz von $^1/_4$ Agarcultur todter Staphylococcen das Mindestmaass für die Neutralisirung der in 2 ccm Kaninchenserum vorhandenen, wirksamen Alexine noch nicht erreicht ist, dass dieses vielmehr kleiner sein muss.
4. Dass das mit todten Bacterienzellen versetzte Serum um so leichter eine Vermehrung lebender Mikroorganismen zulässt, je grösser unter sonst gleichen Verhältnissen die Menge der zugesetzten todten ist.

Es musste nunmehr zunächst für jeden genauer zu untersuchenden Mikroorganismus das Mindestmaass todter Zellen bestimmt werden, welches hinreicht, um eine bestimmte Serummenge unwirksam zu machen. Dann aber musste auch untersucht werden, wie sich ein so behandeltes Serum bei Einsaat andersartiger Mikroben verhält.

Tabelle XII.

Kaninchenserum zu je $1^1/_2$ ccm in Röhrchen vertheilt, welche verschiedene Mengen todter Staphylococcen zugesetzt erhalten. Die bei 100° sterilisirten Coccen-Aufschwemmungen sind so hergestellt, dass die gewünschte Menge von Zellen in 0,1 ccm enthalten ist. Einsaat: Staphylococcus.

	Sofort	Nach $2^1/_2$ h	Nach $7^1/_2$ h
1. Je $1^1/_2$ ccm Serum u. $^1/_{40}$ Oese todt. Staphyl.	208	31	1 216
	432	50	1 528
2. Je $1^1/_2$ ccm Serum u. $^1/_{20}$ Oese todt. Staphyl.	384	82	68 000
	416	101	62 400

	Sofort	Nach $2^1/_2$ h	Nach $7^1/_2$ h
3. Je $1^1/_2$ ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Staphyl.	262 360	139 162	107 300 114 000
4. Je $1^1/_2$ ccm Serum u. $^1/_2$ Oese todt. Staphyl.	262 328	254 176	319 000 286 000
5. Je $1^1/_2$ ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl.-Lösung	384	13	1 240

Während somit die Beigabe von $^1/_{40}$ Oese die bactericide Wirkung von $1^1/_2$ ccm eines im Ganzen nicht besonders stark wirksamen Serums nicht wesentlich, gegenüber der Controlprobe, geschädigt hatte, war dies bei Zusatz von $^1/_{20}$ bis $^1/_7$ Oese bereits in hohem Grade der Fall, wie es namentlich die reiche Besetzung der nach $7^1/_2$ Stunden angelegten Platten erkennen lässt. Andererseits aber ist die Keimabnahme, die auf den nach $2^1/_2$ Stunden angelegten Platten zu constatiren ist, ein sicheres Kennzeichen dafür, dass sich die, durch todte Bacterien hervorgebrachte Paralysirung der Alexinwirkung nicht ohne weiteres mit der Inactivirung des Serums vergleichen lässt, wie sie beispielsweise durch Erhitzung auf 60° erfolgt.

In allen folgenden Versuchen wurde mit Serummengen von 1 ccm operirt, für welche als Einheit zunächst die zur Paralysirung nöthige Menge todter Bacillen bestimmt wurde.

Tabelle XIII.

Kaninchenserum zu je 1 ccm vertheilt. Zusatz von bei 100° sterilisirten Bacterien-Aufschwemmungen, die so hergestellt sind, dass in 0,1 ccm die gewünschte Menge todter Zellen enthalten ist.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 7 h
a) Einsaat Staphylococcus.			
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todter Staphylococcen	1 056	12 49	41 38
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{25}$ Oese todter Staphylococcen	1 120	26 31	27 23
3. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen	1 112	1 040 1 216	12 560 15 200
4. Je 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 448	24 8	9 17

	Sofort	Nach 3 h	Nach 7 h
b) Einsaat Bacillus typhi.			
1. Je 1 ccm Serum u. 1/50 Oese todter Typhusbacillen	288	34 41	86 62
2. Je 1 ccm Serum u. 1/25 Oese todter Typhusbacillen	376	39 50	25 28
3. Je 1 ccm Serum u. 1/10 Oese todter Typhusbacillen	448	103 192	75 90
4. Je 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	336	10 18	0 2

In diesem Versuche hatte das Serum, auch dem sonst ziemlich widerstandsfähigen Staphylococcus gegenüber, sehr ansehnliche Wirkungen entfaltet; dennoch hatte $^1/_{10}$ Oese sterilisirter Coccen, dem Serum zugesetzt, hingereicht, um die bactericide Wirksamkeit so gut wie vollständig aufzuheben.

Geringere Mengen, die in Tabelle XIII auf ein minderwerthiges Serum bereits einen gewissen Einfluss ausgeübt hatten, waren wirkungslos geblieben.

Weiterhin aber zeigt sich, dass die gleichen, auf die Oese als Einheit bezogenen Quantitäten todter Typhusbacillen die Alexine des Serums nahezu unverändert liessen.

Der Versuch gewinnt an Interesse noch durch seinen zweiten Theil, bei welchem dem Serum die gleichen Mengen todter Bacterien zugesetzt, aber die ungleichartigen Mikroorganismen eingesäet wurden.

Tabelle XIV.

Gleichzeitig mit demselben Serum und in derselben Weise angestellter Versuch wie der in Tab. XIII wiedergegebene. Die daselbst angeführten Controlproben, bei denen dem Serum 0,1 ccm steriler NaCl-Lösung zugesetzt wurden, gelten auch hier.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 7 h
a) Einsaat Staphylococcus.			
1. Je 1 ccm Serum u 1/50 Oese todter Typhusbacillen	1 144	4 18	117 43
2. Je 1 ccm Serum u. 1/25 Oese todter Typhusbacillen	968	35 17	70 94
3. Je 1 ccm Serum u. 1/10 Oese todter Typhusbacillen	1 360	22 30	18 94

	Sofort	Nach 3 h	Nach 7 h
b) Einsaat Bac. typhi.			
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todter Staphylococcen	352	42 35	62 44
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{25}$ Oese todter Staphylococcen	324	62 48	61 160
3. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen	220	174 195	267 189

Während somit 1 ccm Serum durch $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen für den Staphylococcus selbst unwirksam wurde, drückte der gleiche Zusatz die Alexinwirkung für den Typhusbacillus nur unwesentlich herab.

Dieses wichtige Resultat, einer geradezu specifischen Wirkung todter Bacterienzellen auf das Serum normaler Thiere, welches mit den ähnlichen, eingangs citirten Versuchen von Nissen jedenfalls in Beziehung steht, wird noch weiterhin Gegenstand der Erörterung sein.

Hier sei nur eines Einwandes gedacht, der diesen Versuchen gegenüber gemacht werden könnte, und der darin besteht, dass die Oese als Maassstab für die Menge der Bacterienzellen zu unsicher sei. Thatsächlich ergab eine Bestimmung der Bacterienzahl, dass die verwendete Oese fast genau viermal so viel Individuen von Staphylococcen, als von Typhusbacillen enthielt. Hingegen war das Gewicht der in der Oese enthaltenen feuchten Culturmasse bei beiden Mikroorganismen annähernd das gleiche (nicht ganz 2 mg.). Uebrigens ergeben sich, wie später zu zeigen sein wird, zwischen Typhus- und Cholerabacillen einerseits und dem Staphylococcus andrerseits, in Bezug auf ihre Beeinflussung der Serumalexine im sterilisirten Zustande, so gewaltige quantitative Differenzen, dass ein, auf die Zahl der Zellen gestützter Einwand kaum ins Gewicht fallen dürfte. —

Bisher war in allen Experimenten die sterilisirte Bacterienaufschwemmung dem Serum etwa 16—20 Stunden früher zugesetzt worden, ehe die Einsaat der lebenden Mikroorganismen erfolgte. Dass diese länger andauernde Berührung des Serums

mit den Zellleibern nicht nothwendig sei, lehren die folgenden Versuche, die gleichzeitig der Bestimmung des »Grenzwerthes« der todten Bacterien dienten. Mit dem Ausdrucke »Grenzwerth« möge weiterhin, der Kürze halber, diejenige Menge von abgetödteten Mikroorganismen bezeichnet sein, welche gerade noch hinreicht, um die in 1 ccm Kaninchenserum zur Wirkung kommenden Alexine so zu paralysiren, dass eingebrachte, gleichartige lebende Bacterien sich entweder sofort, oder nach einer nur kurzandauernden und vorübergehenden Hemmung zur Entwicklung anschicken.

Es sei von vornherein darauf aufmerksam gemacht, dass dieser Grenzwerth, namentlich in Bezug auf eine sofort eintretende Vermehrung oder eine vorübergehende Entwicklungshemmung, einigermaassen schwankt, je nachdem das verwendete Serum einen grösseren oder geringeren keimtödtenden Effect entfaltet, welche Erscheinung in den anzuführenden Tabellen mehrfach hervortritt. Die Thatsache aber, dass die Stärke der Bactericidie, von individuellen Verhältnissen der Versuchsthiere abhängig, schwanken kann, ist seit Buchner immer wieder bestätigt worden.

Tabelle XV.

25 ccm Kaninchenserum, in Eprouvetten zu je 1 ccm vertheilt, werden in 5 Serien geschieden. 4 Eprouvetten jeder Serie erhalten einen Zusatz von $^1/_{50}$ beziehungsweise $^1/_{10}$ Oese durch Hitze sterilisirter Staphylococcenaufschwemmung in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung, die letzte dient als Controle der normalen bactericiden Wirkung und wird mit 0,1 ccm reiner physiologischer NaCl-Lösung versehen. In die Röhrchen der ersten Serie erfolgt die Einsaat sofort nach Zusatz der todten Coccen, die andern bleiben vor Einsaat beziehungsweise durch 2, 4, 6 und 12 Stunden bei 37° mit den todten Coccen in Berührung. Einsaat: Staphylococcus.

I. Serie. Einsaat sofort nach Zusatz der todten Coccen.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todter Coccen	1 440	632	8 020
	1 128	552	7 900
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Coccen	1 296	1 048	315 300
	1 360	840	470 000
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 232	45	42

II. Serie. Serum vor Einsaat durch 2 Stunden bei 37° mit todten Coccen in Berührung.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todter Coccen	1 936 1 644	334 264	720 1 224
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Coccen	1 568 1 800	976 1 208	93 000 112 000
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 824	14	40

III. Serie. Serum vor Einsaat durch 4 Stunden bei 37° mit todten Coccen in Berührung.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todter Coccen	1 152 1 280	119 82	37 4
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Coccen	1 632 1 672	1 584 1 008	40 860 41 200
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 120	11	8

IV. Serie. Serum vor Einsaat durch 6 Stunden bei 37° mit todten Coccen in Berührung.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todter Coccen	1 040 1 184	148 109	191 58
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Coccen	1 112 1 576	1 872 752	9 700 8 360
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 328	73	5

V. Serie. Serum vor Einsaat durch 12 Stunden bei 37° mit todten Coccen in Berührung.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todter Coccen	1 896 1 704	336 132	154 131
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Coccen	1 760 1 808	1 600 1 688	11 200 10 800
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 920	28	109

Das überraschendste Ergebnis dieses Versuches ist die Erscheinung, dass diejenigen Serumproben, welche längere Zeit bei 37° mit todten Staphylococcen in Berührung gestanden waren, eher eine bactericide Wirkung erkennen liessen, als die

welche sofort nach Zusatz der Zellleiber in Verwendung genommen worden waren. Von ähnlichen Versuchen wird anhangsweise noch die Rede sein.

Sonst bestätigt die Tabelle die vorhergegangene Bestimmung des Grenzwerthes für den verwendeten Staphylococcenstamm mit $^1/_{10}$ Oese todter Zellen und zeigt, dass es nicht nothwendig ist, nach Zusatz des Grenzwerthes zuzuwarten, sondern dass die Paralysirung der Alexine allsogleich eintritt. Im Folgenden wurde daher die Einsaat der lebenden Testbacterien sofort nach Zusatz der todten vorgenommen.

Nachstehende Tabellen enthalten verkürzt wiedergegebene Versuche, deren Zweck war, die Grenzwerthe für verschiedene Mikroorganismen festzustellen.

Tabelle XVI.

Kaninchenserum zu je 1 ccm vertheilt. Gleich nach Zusatz der todten Pyocyaneusbacillen erfolgt die Einsaat. Für diesen und die folgenden Versuche wurde die Methode festgehalten, dass die durch Hitze von 100° sterilisirten Bacterienaufschwemmungen in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung die gewünschte Menge von Zellen enthielten. Diese Menge wurde entweder nach Oesen oder Bruchtheilen von ganzen Agarculturen bestimmt. Einsaat: Bacillus pyocyaneus.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todt. Pyocyaneusbacillen	8 480 5 900	9 760 5 648	14 500 14 360
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Pyocyaneusbacillen	6 200 7 370	7 060 7 680	ca. 60 000 ca. 80 000
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	8 050	3 200	9 500

Die Aussaat war in diesem Versuche etwas zu hoch ausgefallen, doch hat sich die Bestimmung des Grenzwerthes für den verwendeten Bacillus pyocyaneus auch durch spätere Versuche als richtig erwiesen. Jedenfalls vermag weniger als $^1/_{10}$ Oese todter Bacillen immer 1 ccm Serum zu paralysiren.

Für die Grenzwerthe von Bacillus typhi und Vibrio cholerae sind weit grössere Mengen todter Zellen erforderlich, wie schon Tabelle XIV b für Typhus gezeigt hat.

Tabelle XVII.

Kaninchenserum. Anordnung wie bisher. Einsaat: Bacillus typhi.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Oese todter Typhusbacillen	1 040 1 032	456 712	968 1 028
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Cultur todter Typhusbacillen	1 008 1 224	600 616	4 224 5 280
3. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todter Typhusbacillen	1 132 1 080	1 776 1 168	28 260 17 300
4. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 056	207	188

Danach liegt der Grenzwerth für Typhus bei $^1/_{10}$ Agarcultur ungefähr gleich 2 Oesen todter Zellen. Das Serum ist hier aber für den sonst hochempfindlichen Typhusstamm von relativ geringer Wirksamkeit gewesen. Thatsächlich liegt der Grenzwerth des Typhusbacillus etwas höher.

Tabelle XVIII.

Kaninchenserum. Anordnung wie bisher. Einsaat: Vibrio cholerae.

	Sofort	Nach 5 h
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Cultur todter Vibrionen	1 848 2 160	384 360
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todter Vibrionen	2 048 1 984	15 170 12 400
3. Je 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Cultur todter Vibrionen	1 952 2 384	ca. 70 000 desgl.
4. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	2 328 2 160	1 2

Auch für Cholera kann man bei einem minderwerthigen Serum einen niedrigeren Grenzwerth erhalten (vgl. Tab. XXIII).

Um also die Alexine von 1 ccm eines wirksamen Kaninchenserums zu paralysiren, muss man von verschiedenen Mikroorganismen, sehr verschiedene Mengen todter Zellen zusetzen, damit ein ganz oder fast ganz ungehemmtes Wachsthum, bei Einsaat der gleichnamigen Bacterienart erfolge. Und zwar betragen diese als Grenzwerthe bezeichneten Mengen, die bei jedem einzelnen Stamm gesondert bestimmt werden müssen:

Für den Staphylococcus pyog. aur. $^1/_{10}$ Oese todter Agarcultur,
Für den Bac. pyocyaneus weniger als $^1/_{10}$ » » »
» » » typhi zwischen $^1/_{10}$ und $^1/_5$ eine ganze Agarcultur
» » Vibrio cholerae $^1/_{10}$ einer ganzen Agarcultur, selten mehr.

V. Die specifische Wirkung todter Bacterien auf die Serumalexine.

Da man das Verschwinden der bactericiden Wirkung eines Serums nicht anders erklären kann, als dadurch, dass die Alexine desselben entweder zerstört oder doch, für die Zeit der Versuchsdauer, unwirksam geworden sind, so ist es zunächst natürlich, anzunehmen, dass ein solches Serum sich ähnlich verhalten werde wie beispielsweise ein auf 60° erhitztes, dass es also zu einem einfachen Nährsubstrat für jeden beliebigen, pathogenen Mikroorganismus geworden sei. Wie aber Tabelle XIV lehrt, trifft diese Voraussetzung nicht ohne Weiteres zu. Durch Einführung der, den Grenzwerth darstellenden Menge todter Bacterienleiber in einen Cubikcentimeter Kaninchenserums gelingt es im Allgemeinen nur, dasselbe für denjenigen Mikroorganismus unwirksam zu machen, welchen man vorher, im sterilisirten Zustande dem Serum zugesetzt hatte. Diese Eigenthümlichkeit ist bei strenger Einhaltung des Grenzwerthes so constant, dass man direct von einer specifischen Beeinflussung des normalen Serums durch abgetödtete Zellen sprechen kann.

Tabelle XIX.

Kaninchenserum mit Aufschwemmungen todter Staphylococcen versetzt. Anordnung die gewöhnliche.

	Sofort	Nach 3 h	Nach $6^1/_2$ h
a) Einsaat: Staphylococcus.			
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{15}$ Oese todter Coccen	1 176	432	4 672
	928	340	5 280
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Coccen	1 000	464	48 500
	1 048	792	45 360
3. Je 1 ccm Serum u. $^1/_8$ Oese todter Coccen	784	808	ca. 80 000
	712	632	ca. 80 000
4. Je 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 120	2	132
	1 088	9	85

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6½ h
b) Einsaat: Vibrio cholerae.			
1. Je 1 ccm Serum u. 1/15 Oese todter Coccen	352	0	0
	272	0	0
2. Je 1 ccm Serum u. 1/10 Oese todter Coccen	272	0	0
	320	1	0
3. Je 1 ccm Serum u. 1/8 Oese todter Coccen	288	1	0
	392	0	0
4. Je 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	392	0	0
	440	0	0

Dem Versuche haftet noch der Fehler an, dass die Einsaat bei dem sehr empfindlichen Choleravibrio wesentlich kleiner war als die bei dem widerstandsfähigeren Staphylococcus. Dieser Fehler ist vermieden in

Tabelle XX.

Kaninchenserum. Anordnung wie im vorigen Versuche.

	Sofort	Nach 4½ h
a) Einsaat Staphylococcus.		
1. Je 1 ccm Serum u. 1/20 Oese todter Coccen	784	1 896
	816	1 824
2. Je 1 ccm Serum u. 1/10 Oese todter Coccen	880	3 872
	992	4 328
3. Je 1 ccm Serum u. 1/5 Oese todter Coccen	960	5 200
	1 056	4 688
4. Je 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	816	88
	792	107
b) Einsaat Vibrio cholerae.		
1. Je 1 ccm Serum u. 1/20 Oese todter Coccen	1 056	0
	1 024	0
2. Je 1 ccm Serum u. 1/10 Oese todter Coccen	992	1
	1 152	1
3. Je 1 ccm Serum u. 1/5 Oese todter Coccen	1 056	0
	1 096	0
4. Je 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	1 336	0
	1 464	0

Mit Berücksichtigung der Schwierigkeiten, welche der Aussaat einer gleich grossen Zahl von Individuen verschiedener Bacterienarten entgegenstehen, muss man die Menge der in das

Versuchsserum eingebrachten lebenden Coccen und Vibrionen als gleichgross bezeichnen. Dennoch ergeben sich, in Bezug auf die Alexinwirkung gewaltige Unterschiede, obwohl in der dritten Reihe der Grenzwerth für den Staphylococcus um mehr als das Doppelte überschritten wurde.

Tabelle XXI.

Kaninchenserum. Zusatz von todten Pyocyaneusbacillen.

	Sofort	Nach 4 h
a) Einsaat: Bacillus pyocyaneus.		
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	384	952
	272	1 992
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	312	1 656
	296	1 440
3. Je 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	404	3 368
	344	3 992
4. Je 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	352	304
	384	288
b) Einsaat: Vibrio cholerae.		
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	1 040	0
	976	0
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	936	0
	776	0
3. Je 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	832	0
	1 000	0
4. Je 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	688	0
	560	0

Tabelle XXII.

Kaninchenserum. Zusatz von abgetödteten Typhusbacillen.

	Sofort	Nach $4^3/_4$ h
a) Einsaat von Bacillus typhi.		
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todter Typhusbacillen	2 016	1 072
	1 744	1 024
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Cultur todter Typhusbacillen	2 128	7 984
	1 120	7 500
3. Je 1 ccm Serum u. $^1/_3$ Cultur todter Typhusbacillen	1 308	11 610
	1 624	13 070
4. Je 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	2 016	21
	1 520	28

	Sofort	Nach $4^3/_4$ h
b) Einsaat Vibrio cholerae.		
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todter Typhusbacillen	?	0
	792	0
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Cultur todter Typhusbacillen	776	12
	808	3
3. Je 1 ccm Serum u. $^1/_8$ Cultur todter Typhusbacillen	960	7
	728	41
4. Je 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	760	0
	352	0

Die angeführten Versuche, deren hervorstechendstes Merkmal ohne Weiteres sichtbar ist, können gleichzeitig den etwaigen Einwand widerlegen, dass der Zusatz der bei 100° sterilisirten Bacterienaufschwemmung, die eine Art von »Bacterienabkochung« vorstellt, nichts anderes als die Einführung einer gut nährenden Substanz bedeute, wodurch bekanntlich die bactericide Wirkung einer thierischen Flüssigkeit weitgehend verändert werden kann, ein Einwand, der übrigens bereits von Denys und Kaisin zurückgewiesen wurde. Aber abgesehen davon, dass man einer Aufschwemmung, oder wenn man will, Abkochung von $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen oder Pyocyaneusbacillen keine »nährenden« Eigenschaften zuschreiben kann, und davon, dass selbst der Zusatz eines ausgezeichneten Nährmittels, wie es die gebräuchliche Bouillon darstellt, erst in grösseren Mengen auf das Bacterienwachsthum im activen Serum begünstigend einwirkt, so wäre es auch chemisch geradezu unverständlich, warum durch Beifügung einer todten Staphylococcenaufschwemmung gerade wieder nur der Staphylococcus, nicht aber der Typhusbacillus oder Choleravibrio begünstigt werden sollte.

Vor dem Versuche, die erwähnten Resultate zu erklären, ist es nothwendig, sich über die, bei solchen Experimenten vorliegenden Verhältnisse Rechenschaft zu geben.

Es sind drei Factoren, welche bei einem, in der erwähnten Art angestellten Versuche mitwirken: auf der einen Seite das Serum mit seinen Alexinen, auf der andern die eingesäten lebenden und die vorher zugesetzten todten Bacillen.

Für das Serum kommt hauptsächlich dessen bactericide Wirksamkeit in Betracht, da die Quantität stets die gleiche bleiben kann. Sie ist in den vorliegenden Untersuchungen, abgesehen von den ersten, mehr orientirenden Experimenten, mit 1 ccm als Einheit unverändert festgehalten worden. Die keimtödtende Wirkung eines Serums hängt ab von individuellen Verhältnissen des blutliefernden Kaninchens und weiterhin von Umständen, die durch den Versuch selbst gegeben sind und auf welche der Untersucher bestimmenden Einfluss nehmen kann. Hieher gehören: die Verwendung frischen oder gelagerten Serums, die Art der Aufbewahrung u. dgl. Für einen und denselben Versuch ist übrigens die bactericide Wirksamkeit eines Serums als constante Grösse zu betrachten.

Was die zur Einsaat benützten, lebenden Bacterien betrifft, so kommen in Betracht: 1. die Widerstandskraft derselben gegenüber dem Serum, 2. die Grösse der Einsaat, 3. die Art und Weise, wie sie der Serumwirkung ausgesetzt werden.

Der letzte Punkt kann, wie der bekannte Watteversuch von Buchner gezeigt hat, von grosser Bedeutung werden, kann aber hier, wo die Bacterien dem Serum stets frei zugesetzt wurden, ausser Acht bleiben. Auf die Grösse der Einsaat wurde schon seit den allerersten Versuchen, die in dieser Richtung unternommen wurden, (Nissen und Buchner 1889) grosses Gewicht gelegt. Hier kann auch dieses Moment unberücksichtigt bleiben, da sich die Einsaatgrösse, wenn auch ziemlich mühsam, beherrschen lässt. Nothwendig ist es dabei, die Menge der eingesäten lebenden Bacillen immer ungefähr gleich gross zu nehmen; allerdings darf man nicht immer eine absolut gleiche Anzahl von Colonien auf der Ausgangsplatte verlangen, da sonst allzuviele Versuche verworfen werden müssten. — Ganz ausserhalb der Macht des Experimentators liegt der erste Punkt, die Widerstandskraft der zum Versuche verwendeten Bacterien, welche man sich, als von der specifischen Constitution des Bacterienprotaplasmas abhängig denken muss.

Diese Widerstandskraft steht zur Serumwirkung in einem umgekehrten Verhältnisse, insoferne als die Serumbactericidie

umso geringer ausfällt, je mehr ein bestimmter Bacillus Widerstand zu leisten befähigt ist.

Es kann daher die bactericide Werthigkeit eines Serums durch Messung der Widerstandskraft bestimmter Bacillen ausgedrückt werden.

An Versuchen, die keimtödtende Kraft eines Serums gewissermaassen zahlenmässig festzustellen, hat es nicht gefehlt. Namentlich Lubarsch[1]) benöthigte einen Maassstab für die Stärke der Keimvernichtung, für den Nachweis, dass das extravasculäre Blut eines Thieres mehr Milzbrandkeime zu tödten vermag, als zur tödtlichen Infection des gleichen Thieres hinreichen. Er nahm als solchen die Zahl an, welche durch die Differenz zwischen den Colonien der Ausgangsplatte und der Platte mit der geringsten Colonienzahl gegeben war und drückte somit die bactericide Werthigkeit des Serums durch die absolute Zahl der überhaupt abgetödteten Keime aus. Die Methode wurde noch weiterhin vielfach benutzt.

Anders ging Däubler[2]) vor, dessen Untersuchungen sich allerdings auf die von Leukocyten ausgehende Keimvernichtung beziehen.

Er nahm die Aussaatgrösse constant (z. B. $^1/_{50}$ Oese Typhusbacillen) und bestimmte entweder die Zeit, binnen welcher die stets gleiche Menge von Bacterien durch eine bestimmte Menge Flüssigkeit, beziehungsweise Zellen vernichtet wurde, oder er zog auch die Menge der Flüssigkeit in Betracht, welche nöthig war, um — offenbar in der gleichen Zeit[3]) — einen bestimmten Effect zu entfalten. Letztere Methode hat bei schärferer Ausarbeitung, namentlich für die Untersuchung der von Zellen ausgehenden Keimvernichtung einen grossen Werth, weil sie gestatten

1) Lubarsch, a. a. O. Nr. 49, S. 488 und an anderen Stellen.

2) Däubler, Centralbl. f. Bacteriol., 1899, Heft 4, S. 134 und 137.

3) Es wäre dringend wünschenswerth, dass so wichtige Untersuchungen, wie die von Däubler, ausführlicher publicirt würden, als dies im Rahmen eines Centralblattes möglich ist. Durch die damit verbundene Zusammendrängung der Versuchsresultate kann die Deutlichkeit Schaden leiden, wie dies bei der summarisch gegebenen Darstellung der Messung der Bactericidie möglich war.

wird, die Zahl der Zellen mit der der Bacterien direct zu vergleichen.

Für die vorliegenden Untersuchungen kam es hauptsächlich darauf an, die Werthigkeit des Serums durch die Widerstandskraft der Versuchsbacterien zum Ausdrucke zu bringen. Dazu war die Angabe absoluter Zahlen nicht zu brauchen. Es wurde daher die Widerstandskraft eines Bacillus in einem bestimmten Serum durch einen Bruch ausgedrückt, welcher angibt, auf den wievielten Theil der Aussaatgrösse die noch lebende Bacterienmenge im Laufe des Versuches überhaupt herabgeht. Dieser Bruch kann kurz als Widerstandscoëfficient bezeichnet werden und gibt gleichzeitig ein Maass für die Werthigkeit des Serums ab, da diese der Widerstandskraft der Bacterien umgekehrt proportional ist.

Bei der Feststellung dieses Coëfficienten kann man natürlich die in Betracht kommenden Zahlen weitgehend abrunden, da ja die Aussaatgrössen nie vollkommen gleich ausfallen können. So sinkt z. B. im normalen Serum (Tabelle XXI) die Zahl der Pyocyaneusbacillen von 352 und 384 nach 4 Stunden auf 304 und 288. Der Widerstandscoëfficient wäre somit $\frac{304}{352}$ oder $\frac{288}{384}$.

Zählt man die über 50 betragenden Zahlen als neues Hundert und rundet entsprechend die unter 50 liegenden ab, so ergibt sich in beiden Fällen $\frac{300}{400} = {}^3/_4$ als Widerstandscoëfficient.

Durch Zusatz von $^1/_{10}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen wird nun der Coëfficient zu $\frac{1656}{312} = \frac{1700}{300} = \frac{17}{3}$ oder $\frac{1440}{296} = \frac{1400}{300} = {}^{14}/_3$.

Der Widerstandscoëfficient ist also nur dann ein echter Bruch, wenn das Serum bactericid gewirkt hat, der Zähler wird grösser als der Nenner, wenn sofortige Vermehrung eintritt.

In Tabelle XX ist danach der Widerstandscoëfficient des Staphylococcus im normalen Serum $= \frac{88}{816}$ und $\frac{107}{792} = \frac{100}{800} = {}^1/_8$.

Verglichen mit den oben für den Pyocyaneus gefundenen, zeigt sich, dass der den Widerstandscoëfficienten ausdrückende

Bruch umso kleiner wird, je stärker das Serum bactericid wirkte. Der Bruch muss = 1, wenn es sich nicht um eine eigentliche Abtödtung, sondern nur um Entwicklungshemmung handelt, und er wird = 0 werden, wenn völlige Keimvernichtung erfolgt.

Es darf dabei freilich nicht ausser Acht gelassen werden, dass, so wie bei der Methode von Lubarsch, auch bei dieser, immer nur zwei Zahlen verglichen werden können, dass also namentlich die Art und Weise des Sinkens der Keimzahl nicht präcis genug zum Ausdrucke kommt. Dennoch gibt der Widerstandscoëfficient für die folgenden Erwägungen auch ein gutes Maass der Serumwerthigkeit an.

Auch der Einfluss, welchen die, dem Serum vor Beginn des Versuches zugesetzten todten Bacterien ausüben, setzt sich, wie der der lebenden aus zwei Componenten zusammen: der specifischen Consitution ihres Protoplasmas und ihrer Menge.

Auf gewisse, noch gänzlich unbekannte Verschiedenheiten in der Zusammensetzung der Bacterienleiber, ein Verhältnis, welches der Ausdruck »specifische Constitution« kennzeichnen soll, muss man schliessen, nicht nur aus der verschiedenen Widerstandskraft der lebenden Bacillen gegen die Serumalexine, sondern auch aus der Thatsache, dass von verschiedenen Bacterienarten, sehr verschieden grosse Mengen sterilisirter Zellleiber nothwendig sind um die bactericide Kraft einer bestimmten Serummenge aufzuheben. Analoga bilden z. B. das Verhalten verschiedener Mikrobienspecies gegenüber einem und demselben Desinfectionsmittel, sowie das im gleichen Medium sehr verschieden starke Wachsthum verschiedener Bacterienarten.

Der bestimmende Einfluss der Menge der zugesetzten todten Zellen ist ohne Weiteres verständlich, wenn man sieht, wie z. B. in Tabelle XIII erst bei Zusatz von $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen zu 1 ccm Serum Wachsthum eintritt, nicht aber bei $^1/_{30}$ oder $^1/_{25}$ Oese.

Es ist nun von Interesse, zu sehen, wie ganz bestimmte Beziehungen bestehen, zwischen dem Widerstandscoëfficienten der Versuchsbacterien oder der durch denselben ausgedrückten bactericiden Werthigkeit eines Serums einerseits und dem Ver-

halten der todten Zellen zu den Alexinen andrerseits. Auf eine solche Beziehung wurde bereits oben aufmerksam gemacht: sie besteht darin, dass mit dem Sinken der Werthigkeit eines Serums, infolge individueller Verhältnisse des Versuchsthieres, auch die Menge todter Bacterienleiber geringer wird, welche man zusetzen muss, um die Alexine unwirksam zu machen.

Um ein besonders auffälliges Beispiel hiefür zu bringen, sei hier ein Versuch angeführt, welcher dazu geführt hatte, den Grenzwerth für den Choleravibrio anfänglich mit $^1/_2$ Oese und weniger anzunehmen.

Tabelle XXIII.

(Verkürzt wiedergegebener Versuch.)

Anordnung wie in den bisher angeführten Tabellen. Einsaat: Vibrio cholerae.

	Sofort	Nach 3 h
1. Je 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Vibrionen	1 080	119
	1 192	75
2. Je 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todt. Vibrionen	1 760	2 984
	1 424	3 168
3. Je 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Oese todt. Vibrionen	1 072	4 048
	1 664	4 240
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 720	163

Sonst starb der benutzte Cholerastamm im Kaninchenserum binnen 3 Stunden regelmässig ganz oder bis auf sehr wenige Keime ab. Man vergleiche mit den Zahlen dieses Versuches die Tabelle XVIII.

Somit lässt sich sagen, dass die Alexine umso leichter und durch umso geringere Mengen todter Bacterien unwirksam werden, je geringer die bactericide Werthigkeit des Serums von vornherein ist.

Drückt man die Werthigkeit des Serums durch den Widerstandscoëfficienten der zur Einsaat verwendeten Bacterien aus, so kommt man zu dem Satze, dass die Alexine durch diejenigen Bacterien im abgetödteten Zustande am kräftigsten beeinflusst werden, deren Widerstands-

kraft im lebenden Zustande am grössten ist. Dies trifft für die bisher genauer studirten Stämme von Bacterien völlig zu. Denn der Bacillus pyocyaneus und der Staphylococcus, deren Widerstandscoëfficient entweder absolut hoch, oder doch im Vergleiche mit dem von Typhus und Cholera sehr bedeutend ist, sind auch diejenigen Stämme, von welchen die geringste Menge todter Zellen genügt, um die Alexine von 1 ccm Kaninchenserum unwirksam zu machen.

Ein schönes Beispiel bietet hiefür auch das Verhalten des Bacterium coli commune, welches bei der theoretischen Ableitung dieses Satzes angeführt werden soll.

Während aber diese Erörterungen nur bei Einsaat von lebenden Bacillen, welche den vorher zugesetzten, abgestorbenen Zellen gleichartig sind, Giltigkeit haben, kommt eine weitere Complication durch die, in Tabelle XIX — XXII erwiesene »specifische« Wirkung der todten Bacterienleiber hinzu.

Man sollte annehmen, dass in einem Serum, welches infolge Zusatzes von $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen, für den Staphylococcus zum Nährboden geworden ist, auch der Typhusbacillus sich vermehren könne.

Wenn man die Thatsache, dass im Blute sofortige Vermehrung stattfindet, ausschliesslich durch die Annahme einer Zerstörung der Alexine erklären würde, so bliebe ein derartiger Befund unverständlich. Man müsste denn weiterhin annehmen, dass die Alexine, welche den Staphylococcus hindern, andere seien als die, welche den Typhusbacillus schädigen. Die nothwendige Consequenz wäre dann, dass im normalen Blute so vielerlei Alexine vorgebildet seien, als es Bacterienarten gibt.

Es ist aber unter Berücksichtigung der oben angeführten Momente wohl möglich, zu einer befriedigenden Erklärung der anscheinenden Specifität der Wirkung todter Bacillen auf die Alexine des normalen Blutes zu gelangen.

Es giebt eine ganze Reihe von Lebenserscheinungen, bei denen dem Aufeinanderwirken zweier Substanzen ein förmlicher Kampf gegen widerstrebende Kräfte vorangeht. So besteht z. B. die Wasseraufnahme der Pflanzen aus dem Boden in einem

complicirten Vorgange, bei dem die Kräfte der Wurzelzellen (wasseranziehende Kraft des Zellprotaplasmas etc.) die widerstrebenden Kräfte der Flächenattraction des Wassers seitens der Bodenelemente, der Capillarität etc. zu überwinden haben. Je nach dem Ausmaasse der in den Wurzelzellen vorhandenen Kraft wird die ganze Pflanze entweder leben oder aber vertrocknen.

Auch das Wachsthum der Bacterien im Serum ist ein solcher Vorgang, bei dem zweierlei Kräfte einander entgegenwirken, die für die vorliegenden Versuche einmal durch den Gehalt des Serums an Alexinen, dann aber durch die alexinparalysirenden Fähigkeiten der Bacterienzellen gegeben sind. Auf den Alexingehalt des Serums wirken ein: 1. die lebenden, 2. die todten Bacillen. Die Wirkung beider auf das Serum muss qualitativ die gleiche sein. Denn wenn Serum seine bactericide Eigenschaft nicht mehr zeigen soll, so muss man lebende Bacterien in grosser Menge einbringen und zwar ist diese Menge für verschiedene Arten verschieden gross. Dasselbe gilt auch für die todten Zellen. Dass quantitative Unterschiede in der Wirkung lebender und todter Mikroorganismen auf die Alexine vorhanden sind, ist von vornherein anzunehmen und wird durch einige Versuche von Denys und Kaisin wahrscheinlich gemacht.

Bezeichnet man den Alexingehalt, oder was dasselbe ist, die bactericide Werthigkeit eines Serums mit A, den Einfluss der lebenden Bacterien auf die Alexine, der in der Widerstandskraft derselben zum Ausdrucke gelangt, mit W, die Wirkung der todten Zellen mit T, so wirken aufeinander

$$A \rightleftarrows W + T.$$

Es kann nun $A = W + T$, d. h. Alexine und Bacterien halten sich gewissermaassen das Gleichgewicht, ein Fall, der praktisch nur kurze Zeit andauern, theoretisch aber wohl vorgestellt werden kann, und der seinen Ausdruck in einer Entwicklungshemmung findet; oder aber es ist $A \gtrless W + T$, d. h. die lebenden Bacterien werden vernichtet oder sie wachsen ungehemmt.

Nun setzt sich sowohl W als T, wie früher ausgeführt wurde, aus zwei Componenten zusammen, welche durch die specifische Constitution des Bacterienprotoplasmas (s, beziehungsweise σ) und die Menge der lebenden und todten Bacterienindividuen (m beziehungsweise μ) gegeben sind. Die ausgeführte Formel hätte demnach zu lauten

$$A \gtreqless (s + m) + (\sigma + \mu).$$

Für ein und denselben Versuch, bei dem man nur den Einfluss der todten Bacterien studiren will, kann W ebenso wie A als constant angesehen werden, während es in der Hand des Untersuchers liegt, in T den einen oder andern oder auch beide Componenten zu variiren. Dies kann für σ durch Einführung einer ungleichnamigen Bacillenart geschehen, für μ durch Aenderung der Individuenzahl, wobei wieder dieselbe oder eine andere Species verwendet werden kann.

Betrachtet man z. B. die Verhältnisse, wie sie bei Zusatz todter und Einsaat lebender Staphylococcen (s) liegen, so ist die Gleichung $A = W_s + (\sigma + \mu)_s$ erfüllt, sobald $\mu = {}^1/_{10}$ Oese todter Coccen, bei einer Einsaat der lebenden, in der ungefähren Individuenzahl von 1000. Ist μ kleiner, so überwiegt A, wie es in Tabelle XIII a sehr schön zu sehen ist; die Gleichung ist nicht erfüllt und es findet Abtödtung statt. Wird μ grösser genommen, so überwiegen die Factoren auf der rechten Seite des Gleichheitszeichens, und das von vornherein gesicherte oder nur unbedeutend gehemmte Wachsthum findet in immer üppigerem Maasse statt, bis zu der, durch die Vermehrungsgeschwindigkeit von selbst gezogenen Grenze. (Tabelle XIX und XX a).

In Ansehung der so entwickelten Formel wird es aber auch sofort verständlich, warum von Bacillus pyocyaneus und Staphylococcus nur eine so kleine Zahl von todten Zellen nothwendig ist, um 1 ccm Serum unwirksam zu machen, bei Einsaat der gleichen Art. Denn da der Factor W für beide ohnedies sehr hoch bemessen ist, braucht der zweite, $(\sigma + \mu)$, d. h. der Grenzwerth nur klein zu sein, um die Gleichung $A = W + (\sigma + \mu)$ zu erfüllen. Das ist auch der Grund dafür, aus theoretischen

Folgerungen heraus, den Satz für allgemein giltig zu erachten, der oben aus Versuchen empirisch abgeleitet wurde, und der so formulirt werden könnte: Je höher der Widerstandscoëfficient einer lebenden Bacterienart im Serum liegt, desto kleiner ist der Grenzwerth für die gleiche Art im sterilisirten Zustande.

Einen directen Beweis hiefür lieferten einige, in allerjüngster Zeit angestellte Versuche, welche durch die kürzlich erschienene Arbeit von Laschtschenko[1]) veranlasst wurden. Laschtschenko gab an, dass frisch gezüchtete Stämme von Bacterium coli commune sich im defibrinirten Kaninchenblute vermehren, ohne wesentliche Entwicklungshemmung zu erleiden. An sechs, aus Fäces reingezüchteten Stämmen von Bacterium coli konnte diese Angabe bestätigt werden, mit der Einschränkung, dass die von Laschtschenko für das defibrinirte Blut gefundene Thatsache für das zellfreie Serum nicht unbedingt zutrifft. Denn hier kann man in der Regel eine Bactericidie wahrnehmen. Dabei ist aber der Widerstandscoëfficient des frisch gezüchteten Bacterium coli immer noch ein sehr hoher. Hingegen werden lange künstlich fortgezüchtete Colistämme vom Serum sehr stark beeinflusst. War also die obige Folgerung richtig, so musste der Grenzwerth des frisch gezüchteten Colonbacillus sehr niedrig, der des lange cultivirten sehr hoch sein. Wie die folgenden Tabellen zeigen, trifft dies thatsächlich genau zu, ein Befund der umso werthvoller ist, als er an Stämmen derselben Art oder wenigstens der gleichen Gruppe gemacht ist.

Tabelle XXIV.

Kaninchenserum zu je 1 ccm in Eprouvetten vertheilt und mit sterilisirten Aufschwemmungen der III. Generation eines aus Fäces reingezüchteten, typischen Colistammes in der üblichen Weise versetzt. Einsaat: Der gleiche Colonbacillus.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todt. Colonbac.	872	664	3 240
	1 016	736	3 928
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{25}$ Oese todt. Colonbac.	976	984	45 260
	912	1 032	43 400

1) Laschtschenko, Hygienische Rundschau, IX, 1899, Heft 3.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
3. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Colonbac.	896	1 344	∞
	1 088	1 920	∞
4. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todt. Colonbac.	856	1 288	∞
	984	1 360	∞
6. 1 ccm Serum und $^1/_{20}$ Cultur todter Colonbac.	1 008	1 296	∞
	1 024	1 520	∞
7. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	952	256	1 856
	1 072	352	1 264

Tabelle XXV.

Kaninchenserum. Anordnung wie bisher. Der verwendete Colistamm ist seit langer Zeit in der Sammlung des hygienischen Institutes fortgezüchtet. Einsaat: Der gleiche Colonbacillus.

	Sofort	Nach 5 h
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Colonbacillen	800	0
	832	0
2. 1 ccm Serum u. $^1/_4$ Oese todt. Colonbacillen	1 008	39
	928	18
3. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todt. Colonbacillen	848	336
	864	392
4. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	1 024	1
	1 184	0

Wendet man bei solchen Versuchen aber ungleichartige, lebende und todte Bacterien an, z. B. lebende Typhusbacillen und sterilisirte Staphylococcen (s), wieder unter der Voraussetzung, dass die Zahl der Typhuskeime (t) ungefähr 1000 ist, so würde die Gleichung $A = W_t + (\sigma + \mu)_s$, bei Anwendung von $\mu = {}^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen nur dann erfüllt sein, wenn die durch den Widerstandscoëfficienten ausgedrückte Widerstandskraft des Typhusbacillus der des Staphylococcus gleichkäme. Da dies nicht der Fall ist, so ist der Factor auf der linken Seite des Gleichheitszeichens überwiegend und es findet Abtödtung statt.

Da aber die in der Klammer stehenden Factoren, $(\sigma + \mu)$, variabel sind, so muss es möglich sein, durch die Veränderung des einen oder des andern die Gleichung in ihrer allgemeinen Form für jeden beliebigen lebenden Mikroorganismus durch

einen andersartigen todten zu erfüllen, d. h. durch wechselnde Mengen todter Bacterienarten ein Serum für beliebige lebende unwirksam zu machen.

Die Richtigkeit dieser Folgerungen zu prüfen, standen zwei Wege offen: es konnte gezeigt werden, dass sich zwei Mikrobienarten von gleich grossem Widerstandscoëfficienten bezüglich ihres Grenzwerthes gegenseitig vertreten können; oder musste nachgewiesen werden, dass es möglich sei, durch Variirung der Grösse des Zusatzes todter Bacterien einer Art in einem bestimmten Serum jeden anderen Mikroorganismus zum Wachsen zu bringen.

Die erste Methode ist mit der grossen Schwierigkeit verbunden, zwei Arten mit genau gleichen Widerstandscoëfficienten zu ermitteln, ein mühevolles Unternehmen, das bisher keinen sicheren Erfolg hatte. Jedoch gelingt es unter Umständen, eine wenigstens theilweise Vertretung des Bacillus pyocyaneus durch den Staphylococcus zu Wege zu bringen. Die folgenden Tabellen lassen auch den wahrscheinlichen Grund erkennen, weshalb für diese beiden Arten die Vertretung nicht immer gelingt.

Tabelle XXVI.

Kaninchenserum. Anordnung die gewöhnliche.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 7 h
a) Einsaat Staphylococcus.			
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Oese todter Staphylococcen	904 952	448 664	112 000 121 500
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen	584 912	648 896	ca. 200 000
3. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todter Staphylococcen	1 008 840	1 544 1 352	ca. $^1/_2$ Million
4. 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	624 980	254 384	5 250 7 300
5. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	784 896	792 864	7 680 10 500
6. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	904 816	912 680	79 300 77 420
7. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. Na Cl-Lösung	980	43	808

	Sofort	Nach 3 h	Nach 7 h
b) Einsaat Bac. pyocyaneus.			
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Oese todter Staphylococcen	764 472	736 496	6 680 6 500
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen	728 616	680 968	5 800 5 750
3. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todter Staphylococcen	600 680	712 944	6 300 6 500
4. 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	944 792	520 488	39 300 18 000
5. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	696 776	832 936	31 000 40 000
6. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	712 856	872 872	ca. 200 000
7. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	984 968	336 400	1 240 1 028

Kann man hier von einer, wenigstens theilweisen Vertretung beider Arten sprechen, so ist dies im folgenden Versuche nicht der Fall.

Tabelle XXVII.

Kaninchenserum. Anordnung wie bisher.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
a) Einsaat Staphylococcus.			
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen	1 432 1 112	824 608	72 600 68 430
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	1 408 1 232	110 94	112 90
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 280	24	27
b) Einsaat Bac. pyocyaneus.			
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen	1 312 1 384	864 1 048	16 320 12 340
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	1 280 1 024	2 352 1 136	32 260 30 570
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 256	1 248	6 576

Der Grund, dass die verwendeten Arten sich das eine Mal vertreten konnten, das andere Mal nicht, liegt offenbar in der verschiedenen Wirksamkeit des Serums dem Staphylo-

coccus gegenüber. In Tabelle XXVI ist dieselbe, wie sich nach 7 Stunden deutlich zeigt, weitaus geringer als in Tabelle XXVII. Daher mag es kommen, dass daselbst der Zusatz von $^1/_{10}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen schon Wachsthum ermöglichte, was im zweiten Falle nicht zutraf.

Im Allgemeinen ist jedenfalls der Grössenunterschied zwischen den Widerstandscoëfficienten des Bac. pyocyaneus und Staphylococcus zu gross, als dass ein ganz gleichmässiges Resultat erwartet werden könnte.

Die zweite der angeführten Methoden führte in jedem Falle zum Ziel. Durch Vergrösserung des Factors μ liess sich ein Serum so verändern, dass darin jeder Mikroorganismus zu wachsen vermochte.

Tabelle XXVIII.

Kaninchenserum. Anordnung die gewöhnliche. Da das Verhalten des Staphylococcus bei Einsaat desselben aus den früheren Tabellen deutlich hervorgeht, wurden von diesem nur wenige Controlproben hergestellt.

	Sofort	Nach $4^1/_2$ h
a) Einsaat Staphylococcus.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Staphylococc.	880	2 544
2. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todt. Staphylococc.	968	4 656
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	896	72
b) Einsaat Vibrio cholerae.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todter Staphylococcen	624 640	4 1
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todter Staphylococcen	696 816	968 872
3. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Cultur todter Staphylococcen	728 504	2 266 2 088
4. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	760	0
c) Einsaat Bac. typhi.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todter Staphylococcen	984 1 072	31 48
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todter Staphylococcen	992 968	576 464
3. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Cultur todter Staphylococcen	1 080 1 024	1 920 2 288
4. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 056	1

Es war somit gelungen, durch eine starke Erhöhung der zugefügten Menge todter Staphylococcen auch die so empfindlichen Stämme des Choleravibrio und Typhusbacillus zum ungehinderten Wachsthum zu bringen. Ueberzeugende Beweise für die Richtigkeit der abgeleiteten Formel brachten die folgenden Versuche, die einen vollen Einblick in das anscheinend specifische Verhalten todter Bacterien auf das Serum gewähren.

Tabelle XXIX.

Kaninchenserum. Anordnung wie bisher.

	Sofort	Nach $4^1/_2$ h
a) Einsaat: Bac. pyocyaneus.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Cultur todter Typhusbac.	784	1 016
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todter Typhusbac.	952	992
3. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Cultur todter Typhusbac.	816	1 024
4. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Cultur todter Typhusbat.	944	1 368
5. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. Na Cl-Lösung	896	1 040
b) Einsaat: Staphylococcus.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Cultur todter Typhusbac.	1 280	5 768
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todter Typhusbac.	1 176	9 200
3. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Cultur todter Typhusbac.	1 152	11 131
4. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Cultur todter Typhusbac.	1 208	12 340
5. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	1 328	944
c) Einsaat Vibrio cholerae.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todter Typhusbac.	216	0
	168	2
2. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Cultur todter Typhusbac.	176	21
	208	12
3. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Cultur todter Typhusbac.	192	8
	240	13
4. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	208	0
d) Einsaat Bac. typhi.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Cultur todter Typhusbac.	680	5
	704	4
2. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Cultur todter Typhusbac.	856	1 232
	688	1 112
3. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Cultur todter Typhusbac.	720	4 320
	688	5 048
1. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	712	0

Ein Vergleich der Abtheilungen *b* und *d* zeigt, dass unter Umständen, wie sie hier bei einem für den Staphylococcus

wenig wirksamen Serum herrschen, ein bestimmter Zusatz todter Typhusbacillen dem Coccus schon ungehemmtes Wachsthum ermöglicht, während durch den gleichen Zusatz die Alexine für den Typhusbacillus selbst noch nicht unwirksam geworden waren. Dafür tritt wieder, beim Vergleich der Abtheilungen c und d, der anscheinend streng specifische Charakter des Vorganges deutlich hervor. Das Gleiche zeigt

Tabelle XXX.

Kaninchenserum. Anordnung wie vorher.

	Sofort	Nach 5 h
a) Einsaat Vibrio cholerae.		
1. 1 ccm Serum u. 1/20 Cultur todter Cholera-	1 504	680
vibrionen	1 584	1 096
2. 1 ccm Serum u. 1/10 Cultur todter Cholera-	1 424	über
vibrionen	1 512	10 000
3. 1 ccm Serum u. 1/5 Cultur todter Cholera-	1 352	
vibrionen	1 472	über
4. 1 ccm Serum u 1/2 Cultur todter Cholera-	1 448	10 000
vibrionen	1 792	
5. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. Na Cl-Lösung	1 456	0
b) Einsaat bac. typhi.		
1. 1 ccm Serum u. 1/20 Cultur todter Cholera-	880	11
vibrionen	1 000	2
2. 1 ccm Serum u. 1/10 Cultur todter Cholera-	992	6
vibrionen	816	2
3. 1 ccm Serum u. 1/5 Cultur todter Cholera-	832	15
vibrionen	872	9
4. 1 ccm Serum u. 1/2 Cultur todter Cholera-	1 048	8
vibrionen	984	17
5. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	1 088	0
c) Einsaat Staphylococcus.		
1. 1 ccm Serum u. 1/20 Cultur todt. Cholera-	416	1 440
vibrionen	488	1 576
2. 1 ccm Serum u. 1/10 Cultur todt. Cholera-	528	
vibrionen	392	
3. 1 ccm Serum u. 1/5 Cultur todt. Cholera-	384	über
vibrionen		8 000
4. 1 ccm Serum u. 1/2 Cultur todt. Cholera-		
vibrionen	496	
5. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	560	432

Diese Versuche werden durch Anwendung der Formel $A = W + (\sigma + \mu)$ leicht verständlich. Denn da es sich offenbar nur darum handelt, die rechts vom Gleichheitszeichen stehende Summe grösser zu machen als A, so muss es ziemlich gleichgültig sein, ob diese Vergrösserung durch den einen oder den andern Theil bedingt wird. Ist also die Widerstandskraft der lebenden Bacillen sehr hoch, wie es sich in den letzten Versuchen für den Staphylococcus glücklich getroffen hat, so braucht der von den todten Zellen auf die Alexine ausgeübte Einfluss nur gering zu sein. Ist hingegen die Widerstandskraft, wie beim Choleravibrio und Typhusbacillus sehr gering, so fällt den todten Zellen die Paralysirung der Alexine fast allein zu und $(\sigma + \mu)$ muss einen sehr hohen Werth annehmen.

Tabelle XXXI.

Kaninchenserum. Die Anordnung weicht von der bisherigen nur insofern ab, als die grossen Mengen todter Zellen diesmal nicht in 0,1, sondern in 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt sind.

	Sofort	Nach 4 h
a) Einsaat Vibrio cholerae.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Cultur todt. Choleravibr.	304	3 848
2. 1 ccm Serum u. 1 Cultur todt. Choleravibr.	288	6 030
3. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Cultur todt. Typhusbac.	376	114
	216	193
4. 1 ccm Serum u. 1 Cultur todt. Typhusbac.	352	1 280
	424	1 528
5. 1 ccm Serum u. 0,2 ccm physiol. Na Cl-Lösung	320	0
b) Einsaat Bac. typhi.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Cultur todter Typhusbac.	296	1 616
2. 1 ccm Serum u. 1 Cultur todter Typhusbac.	352	2 112
3. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Cultur todter Choleravibrionen	792	1 968
	664	1 504
4. 1 ccm Serum u. 1 Cultur todter Choleravibrionen	408	4 320
	640	4 080
5. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	624	12

Hier hat sowohl der Choleravibrio im Serum mit todten Typhusbacillen wachsen können, wie der Typhusbacillus in dem mit todten Vibrionen; ja es ist sogar die Entwicklung des

letzteren hier noch etwas üppiger, als nach Zusatz todter Typhuszellen, was jedenfalls davon herrührt, dass von zwei gleichalten Agarculturen beider Stämme, die des Vibrio cholerae weitaus üppiger ist.

Danach dürfte die Giltigkeit der Formel: $A = (s + m) + (\sigma + \mu)$ für die vorliegenden Versuche erwiesen sein.

VI. Versuche über die Art der Wirkung todter Bacterien auf die Alexine.

Die vorstehenden Versuche haben die bereits mehrfach beobachtete Thatsache bestätigen können, dass todte Bacterienleiber eine Ausschaltung der Alexinwirkung herbeiführen. Es konnte gezeigt werden, dass zur Erreichung dieses Effectes von verschiedenen Bacterienarten sehr verschieden grosse Mengen todter Zellen erforderlich sind. Die älteren Angaben von Nissen über eine gewisse specifische Wirkung der Bacterien auf die bactericide Wirksamkeit des Blutes konnten extravasculär, am zellfreien Serum bestätigt und erweitert werden. Die an die Beobachtung der »specifischen« Wirkung geknüpften, theoretischen Reflexionen, deren Geltung durch eine Reihe, ad hoc angestellter Experimente bekräftigt wird, haben zu dem Versuche einer Erklärung der Art und Weise geführt, wie diese anscheinend qualitativ specifische Wirkung der Bacterienzellen auf die Alexine, nur als eine quantitativ specifische in Betracht kommt. Es ist zu verlockend, um nicht darauf hinzuweisen, dass vielleicht auch für die Deutung gewisser, bei der Immunisirung auftretender Erscheinungen, eine ähnliche wie die hier vorgeschlagene Betrachtungsweise vortheilhaft sein könnte. Steht es ja jetzt schon für gewisse Immunitätsreactionen, z. B. für die Agglutinationserscheinungen beim Typhus und Colonbacillus ziemlich fest, dass ihr specifischer Charakter nicht so sehr durch qualitative, als vielmehr quantitative Momente bedingt ist.

Aber einen Einblick in die Art und Weise der Beeinflussung der Alexine durch die Bacterienzelle haben alle diese Versuche nur nach einer Richtung hin gebracht: dass nämlich das Unwirksamwerden eines so behandelten Serums nicht mit

der Inactivirung im gewöhnlichen Sinne verglichen werden kann. Denn unter »Inactivirung« in dem Sinne, wie er von Buchner zuerst eingeführt und seither beibehalten wurde, versteht man jeden Eingriff, bei welchem die bactericiden Effecte des Blutes und Serums durch Zerstörung der Alexine beseitigt werden. Das kann geschehen durch Erhitzen, durch Insolation u. dgl. Charakteristisch für ein inactivirtes Serum ist der Umstand, dass sich Bacterien in demselben allsogleich und üppig vermehren können. In diesem strengen Sinne ist ein durch Zusatz todter Bacterienleiber unwirksam gewordenes Serum nicht als inactivirt zu betrachten. Denn in gar vielen Fällen ist noch eine deutliche Entwickelungshemmung oder auch Keimabnahme in den ersten Zeiten wahrzunehmen; das könnte aber schliesslich durch eine nur theilweise Zerstörung der Alexine erklärt werden. Völlig unvereinbar mit dem Begriffe der Inactivität aber ist der Befund, dass ein durch Zusatz von $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen unwirksam gewordenes Serum, den Staphylococcus selbst wachsen, den Typhusbacillus aber nicht aufkommen lässt. Es kann sich also nicht um eine Zerstörung der Alexine schlechtweg handeln.

Es dürfte hier der Ort sein, auf Versuche einzugehen, die für eine eigenartige, nicht rein quantitativ chemische Wirkung der Zellen auf die Alexine sprechen.

Tabelle XXXII.

12 ccm Kaninchenserum werden in 6 Röhrchen vertheilt, von welchen 2 je 1, 2 je 2, 2 je 3 ccm enthalten. Von den Röhrchen mit je 1 ccm Serum dient das eine als Controle, das andere erhält einen Zusatz von $^1/_{10}$ Oese todter Staphylococcen in 0,1 ccm physiologischer NaCl-Lösung. Die übrigen werden mit den unten angeführten Quantitäten der gleichen Aufschwemmung versetzt. Die Einsaat erfolgt in einer der jeweiligen Serummenge entsprechenden Grösse. Einsaat: Staphylococcus.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 7 h
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Staphylococc.	1 096	1 232	ca. $^1/_2$ Mill.
2. 2 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Staphylococc.	1 078	1 088	400 000
3. 2 ccm Serum u. $^2/_{10}$ Oese todt Staphylococc.	1 176	1 256	490 000
4. 3 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Staphylococc.	1 104	840	63 470
5. 3 ccm Serum u. $^3/_{10}$ Oese todt. Staphylococc.	1 096	1 144	320 000
6. 1 ccm Serum u 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	1 120	19	84

Tabelle XXXIII.

Kaninchenserum. Die dem vorigen Versuche ähnliche Anordnung ist aus der Tabelle selbst ohne Weiteres ersichtlich. Einsaat: Staphylococcus.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. 1 ccm Serum u. 1/10 Oese todt. Staphylococc.	1 624	1 936	132 000
2. 1 1/2 ccm Serum u. 1/10 Oese todt. Staphylococcen	1 744	832	24 600
3. 1 1/2 ccm Serum u. 1/7 Oese todt. Staphylococcen	1 168	694	15 160
4. 2 ccm Serum u. 1/10 Oese todt. Staphylococc.	1 472	472	31 780
5. 2 ccm Serum u. 2/10 Oese todt. Staphylococc.	1 376	1 344	40 900
6. 3 ccm Serum u. 1/10 Oese todt. Staphylococc.	2 240	1 088	40 000
7. 3 ccm Serum u. 3/10 Oese todt. Staphylococc.	1 536	880	25 300
8. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	1 824	12	72

Die Tabellen zeigen, dass die Menge todter Coccen, die für das Unwirksamwerden von 1 ccm Serum genügt, unter Umständen auch grössere Quantitäten beeinflussen kann. Versuche daraus, eine enzymhaltige Wirkung der todten Zellen abzuleiten, hatten schliesslich umsoweniger Erfolg, als ja auch die durch Hitze nicht zerstörbare Wirksamkeit gegen eine solche Annahme spricht.

Weiter wurde versucht, festzustellen, ob die Anwesenheit der abgetödteten Mikroorganismen im Serum während der ganzen Versuchsdauer nothwendig ist und ob durch ihre Entfernung das Serum wieder wirksam gemacht werden könne. Das sicherste Mittel dazu würde die keimdichte Filtration eines vorher mit Bacterien versetzten Serums bieten. Da sich aber dieser Weg, nach den eingangs mitgetheilten Versuchen von selbst verbot, blieb nur übrig, die Abscheidung der zugesetzten Bacterien durch ausgiebiges Centrifugiren anzustreben. Es wird freilich nie gelingen, auf diese Weise alle Zellen aus dem Serum wegzubringen: in der Hauptsache aber erreicht man diesen Zweck doch so vollständig, dass in mikroskopischen Präparaten der abgehobenen klaren Flüssigkeit erst auf viele Gesichtsfelder ein oder der andere Coccus zu sehen ist. Die Verwendung des Staphylococcus

zu diesen Versuchen empfahl sich, einerseits wegen der sicheren Wirkung, welche relativ geringe Mengen im abgetödteten Zustande auf das Serum ausüben, andrerseits, weil er noch genug empfindlich gegen die bactericide Wirkung der Controlproben ist.

Tabelle XXXIV.

10 ccm Kaninchenserum werden in 4 Röhrchen zu je 1, und 2 zu je 3 ccm gefüllt. Letztere erhalten einen Zusatz von je $^3/_{10}$ Oesen durch Hitze getödteter Staphylococcen in 0,1 ccm NaCl und werden centrifugirt, nachdem die eine $^1/_4$ Stunde, die andere 4 Stunden sammt den entsprechenden Controlen bei 37° gestanden hatte. Nach der völlig gelungenen Ausscheidung der Coccen werden je 2 ccm der klaren Flüssigkeit abgehoben und verwendet.
Einsaat: Staphylococcus.

I. Serie. Die zum Centrifugiren bestimmten Proben standen mit den Controlen vorher $^1/_4$ Stunde bei 37°.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. 1 ccm klares Centrifugat	424	336	36 380
	296	149	40 480
2. 1 ccm Serum mit $^1/_{10}$ Oese todt. Coccen	360	380	96 300
3. 1 ccm Serum mit 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	352	0	168

II. Serie. Die zum Centrifugiren bestimmten Proben standen vorher sammt den Controlen 4 Stunden bei 37°.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. 1 ccm klares Centrifugat	464	1 544	98 500
	488	1 936	71 480
2. 1 ccm Serum mit $^1/_{10}$ Oese todt. Coccen	840	1 656	112 500
3. 1 ccm Serum mit 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	568	12	179

Tabelle XXXV.

Kaninchenserum. Die zum Centrifugiren bestimmten Proben mit je 4 ccm erhalten einen Zusatz von $^4/_{10}$ Oesen todter Staphylococcen und zwar die der ersten Serie in einem Raume von 9°, wo alles zum Centrifugiren bereit steht. Sofort nach Zusatz wird centrifugirt. Das Serum der zweiten Serie wird vorher 5 Stunden bei 37° gehalten. Nach beendigtem Centrifugiren werden 2 ccm der klaren Flüssigkeit abgehoben, während der graue, an die Wände der Eprouvette fest angelegte Bodensatz in dem Reste der Flüssigkeit (2 ccm) gleichmässig vertheilt wird. Die jeweiligen Controlproben sind gleichzeitig

angelegt und entsprechend den Versuchsröhrchen behandelt worden. Einsaat: Staphylococcus.

I. Serie. Sofort nach Zusatz der todten Coccen centrifugirt.

	Sofort	Nach $2^1/_2$ h	Nach 5 h
1. 1 ccm klares Centrifugat	560	192	7 260
	536	264	7 740
2. 1 ccm Centrifugat mit Coccensatz	832	832	27 180
	912	992	29 120
3. 1 ccm Serum mit $^1/_{10}$ Oese todter Coccen	888	504	23 100
	808	592	17 000
4. 1 ccm Serum mit 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	408	22	84
	624	26	36
II. Serie. Die Proben standen vor dem Centrifugiren 5 Stunden bei 37°.			
1. 1 ccm klares Centrifugat	488	560	18 300
	704	624	10 650
2. 1 ccm Centrifugat mit Coccensatz	896	1 392	37 260
	944	768	30 300
3. 1 ccm Serum mit $^1/_{10}$ Oese todter Coccen	880	840	25 500
	928	1 032	21 300
4. 1 ccm Serum mit 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	800	2	132
	728	45	59

Auch bei dieser Versuchsanordnung tritt der anscheinend specifische Einfluss, den die todten Bacterien auf das Serum ausüben scharf hervor.

Tabelle XXXVI.

Kaninchenserum. Ausser den nöthigen Controlen werden 2 Proben zu je 8 ccm hergestellt, mit $^8/_{10}$ Oesen todter Staphylococcen versetzt und die eine unmittelbar darauf, die andere nach 3stündigem Verweilen bei 37° centrifugirt. Dann wird wie im vorigen Versuche die Hälfte der Flüssigkeit abgehoben, die andere mit dem Bodensatze vermischt.

I. Serie. Sofort nach Zusatz der todten Coccen centrifugirt.

	Sofort	Nach $2^1/_2$ h	Nach 6 h
a) Einsaat: Staphylococcus.			
1. 1 ccm klares Centrifugat	192	104	2 032
	176	176	3 136
2. 1 ccm Centrifugat mit Bodensatz . .	200	192	12 180
	280	208	13 230
3. 1 ccm Serum mit $^1/_{10}$ Oese todt. Coccen	224	108	7 520
4. 1 ccm Serum mit 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	336	5	83

	Sofort	Nach $2^1/_2$ h	Nach 6 h
b) Einsaat: Vibrio cholerae.			
1. 1 ccm klares Centrifugat	480	0	0
	392	0	2
2 1 ccm Centrifugat mit Coccensatz . .	456	1	1
	448	0	1
3. 1 ccm Serum mit $^1/_{10}$ Oese todt. Coccen	560	0	1
4. 1 ccm Serum mit 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	408	0	0
II. Serie. Die Proben standen vor dem Centrifugiren 3 Stunden bei 37°.			
a) Einsaat: Staphylococcus.			
1. 1 ccm klares Centrifugat	224	152	11 370
	256	136	15 400
2. 1 ccm Centrifugat mit Coccensatz. .	248	296	16 100
	200	232	14 560
3. 1 ccm Serum mit $^1/_{10}$ Oese todt. Coccen	216	364	12 740
4. 1 ccm Serum mit 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	328	12	13
b) Einsaat Vibrio cholerae.			
1. 1 ccm klares Centrifugat	392	2	4
	304	31	0
2. 1 ccm Centrifugat mit Coccensatz .	400	9	0
	360	1	1
3. 1 ccm Serum mit $^1/_{10}$ Oese todt. Coccen	352	0	0
4. 1 ccm Serum mit 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	320	1	3

Es ist also die Anwesenheit der todten Bacterien nicht nothwendig und ihre Entfernung stellt die bactericide Fähigkeit des Serums nicht wieder her. Die Versuche deuten ferner an, dass eine schwache Keimvernichtung und Entwickelungshemmung noch in jenen Proben vorhanden ist, in welchen das Serum mit den Coccen nur kurze Zeit in Berührung stand, dass aber ein länger dauernder Contact auch auf diese Reste noch ungünstig einwirkt. Während der Staphylococcus nach Entfernung der todten Zellen in seinem Wachsthum nur unwesentlich gehemmt war, fand beim Choleravibrio stärkste Vernichtung statt. Aber auch er lässt sich unter diesen Umständen zum Wachsthum bringen.

Tabelle XXXVII.

Von Kaninchenserum werden 2 Proben von je 6 ccm hergestellt, die eine mit $^6/_{10}$ Oesen, die andere mit $^6/_5$ Agarculturen von Staphylococcus versetzt, $^1/_2$ Stunde bei 37° belassen und sodann centrifugirt. Von der klaren Flüssigkeit werden je 4 ccm abgehoben und sonst wie im vorigen Versuche behandelt.

	Sofort	Nach $4^1/_2$ h
a) Einsaat: Staphylococcus.		
1. 1 ccm klares Centrifugat (Probe mit $^6/_{10}$ Oesen todter Coccen)	776	1 160
	1 152	2 600
2. 1 ccm klares Centrifugat (Probe mit $^6/_5$ Cultur todter Coccen)	896	2 176
	792	2 116
3. 1 ccm Centrifugat m. Coccensatz (Probe m. $^6/_{10}$ Oes.)	1 024	3 992
4. 1 ccm Centrifugat m. Coccensatz (Probe m. $^6/_5$ Cult.)	752	3 360
5. 1 ccm Serum mit $^1/_{10}$ Oese todter Coccen	856	4 928
6. 1 ccm Serum mit 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	976	328
b) Einsaat: Vibrio cholerae.		
1. 1 ccm klares Centrifugat (Probe mit $^6/_{10}$ Oesen)	984	0
	800	0
2. 1 ccm klares Centrifugat (Probe mit $^6/_5$ Cultur)	848	1 192
	880	1 016
3. 1 ccm Centrifugat m. Coccensatz (Probe m. $^6/_{10}$ Oes.)	872	0
4. 1 ccm Centrifugat m. Coccensatz (Probe m. $^6/_5$ Cult.)	952	7 985
5. 1 ccm Serum mit $^1/_6$ Cultur todter Coccen	984	3 264
6. 1 ccm Serum mit 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	1 048	1

Der Parallelismus zwischen dem Verhalten eines Serums, welches noch die abgetödteten Coccen enthält und dem eines solchen, aus dem sie entfernt wurden, ist somit ein vollständiger.

Berücksichtigt man, dass, wie oben angeführt, gewichtige Gründe gegen die Annahme einer völligen Zerstörung der Alexine durch todte Bacterien sprechen, so macht das rasche Verschwinden unmittelbar nach Zusatz der todten Zellen unwillkürlich den Eindruck, als ob die Alexine entweder chemisch, wie ein unlöslicher und daher unwirksamer Niederschlag, auf Zusatz der sterilisirten Zellaufschwemmung als Reagens ausgefallen wären, oder als ob dynamisch sich die gegenseitigen Activitäten des Serum- und des Bacterieneiweisses paralysirt hätten.

VII. Versuche über die Regeneration der Alexine.

In aller Kürze sollen noch einige Versuche Erwähnung finden, die sich zunächst auf die in Tabelle XV hervortretende Erscheinung beziehen, dass Serum mit abgetödteten Bacillen, welches sofort oder kurze Zeit nach Zusatz der letzteren mit lebenden inficirt wurde, eine reichlichere Entwickelung gestattet als dann, wenn die Bacterien längere Zeit bei 37° mit dem Serum in Berührung gewesen waren.

Tabelle XXXVIII.

15 ccm Kaninchenserum werden in 3 Serien zu je 5 Eprouvetten mit 1 ccm getheilt, mit todten Pyocyaneusbacillen versetzt und mit diesen verschieden lange Zeit in Berührung gelassen. Das Resultat der Zählung der ersten Serie ist gelegentlich der Besprechung der Grenzwerthbestimmung bereits in Tab. XVI mitgetheilt. Einsaat: Bac. pyocyaneus.

I. Serie. Einsaat sofort nach Zusatz der todten Bacillen. S. Tab. XVI.

II. Serie. Vor der Einsaat standen die Proben 3 Stunden bei 37°.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	9 400 6 300	6 200 4 520	21 800 9 680
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	5 870 6 000	6 100 5 760	26 620 29 040
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	6 500	4 800	8 340
III. Serie. Vor der Einsaat standen die Proben 6 Stunden bei 37°.			
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{50}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	5 070 5 100	4 620 5 360	6 870 7 100
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Pyocyaneusbacillen	4 020 3 500	5 700 3 990	6 300 5 980
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. Na Cl-Lösung	3 900	2 450	5 300

Ein deutliches Resultat liefern die nach 6 Stunden angelegten Platten der III. Serie in dem gewaltigen Sinken der Colonienzahl.

Tabelle XXXIX.

21 ccm Serum mit todten Typhusbacillen versetzt. Anordnung wie im vorigen Versuche. Einsaat: Bacillus typhi.

I. Serie. Einsaat sofort nach Zusatz der todten Typhusbacillen.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Typhusbacillen	352	39	14
	392	55	23
2. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todt. Typhusbacillen	416	161	272
	488	104	296
3. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Oese todt. Typhusbacillen	504	312	320
	432	280	336
4. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	480	15	0
II. Serie. Vor der Einsaat standen die Proben 3 Stunden bei 37°.			
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Typhusbacillen	384	81	13
	424	136	10
2. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todt. Typhusbacillen	480	96	144
	528	97	121
3. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Oese todt. Typhusbacillen	440	128	90
	424	112	109
4. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	504	39	0
III. Serie. Vor der Einsaat standen die Proben 6 Stunden bei 37°.			
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todt. Typhusbacillen	408	20	3
	360	18	4
2. 1 ccm Serum u. $^1/_5$ Oese todt. Typhusbacillen	304	12	4
	376	29	8
3. 1 ccm Serum u. $^1/_2$ Oese todt. Typhusbacillen	288	23	16
	392	42	20
4. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm physiol. NaCl-Lösung	400	11	5

In diesem Versuche wurde der Grenzwerth der Typhusbacillen nicht erreicht. Dennoch hatte der Zusatz von $^1/_2$ Oese die Serumalexine bereits merklich alterirt, aber nur in der ersten Serie in wesentlichem Maasse. Noch auffallender wurde dies nach 24 Stunden Aufenthalt der Proben im Brutschrank. Danach waren alle Proben der ersten Serie, mit Ausnahme von 4, dicht trüb, während von denen der zweiten Serie nur die unter 3 stehenden eine Trübung zeigten und alle anderen dauernd klar blieben.

Tabelle XL.

24 ccm Kaninchenserum in 3 Serien mit todten Staphylococcen versetzt.
Einsaat: Staphylococcus.

I. Serie. Sofort nach Zusatz der todten Coccen besät.

	Sofort	Nach $4^1/_2$ h
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Oese todter Coccen . .	528	2 304
	600	3 872
	568	3 136
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Coccen . .	664	4 592
	400	2 052
	464	4 016
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	424	168
	704	152
II. Serie. Vor der Einsaat standen die Proben 5 Stunden bei 37°.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Oese todter Coccen . .	584	392
	496	328
	608	274
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Coccen . .	552	3 522
	456	1 696
	520	2 128
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	552	101
	520	48
III. Serie. Vor der Einsaat standen die Proben 12 Stunden bei 37°.		
1. 1 ccm Serum u. $^1/_{20}$ Oese todter Coccen . .	576	336
	424	82
	480	464
2. 1 ccm Serum u. $^1/_{10}$ Oese todter Coccen . .	528	1 428
	512	752
	280	1 352
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm phys. NaCl-Lösung	352	120
	472	128

Es liegt nahe, aus solchen Versuchen, von denen der letzte wohl am klarsten ist, den Schluss zu ziehen, dass die durch die abgetödteten Bacterien paralysirten Alexine sich allmählich regeneriren können. Man könnte sich vorstellen, dass das Bacterienprotoplasma mit den Alexinen eine lockere Bindung eingeht, die unter Umständen wieder gelöst werden kann.

Es darf aber nicht verschwiegen bleiben, dass ein solches Resultat nicht in allen Fällen zu erzielen war. Offenbar handelt es sich hier, beim extravasculären Blute, um complicirte Verhältnisse, die der Untersucher nicht zu übersehen, viel weniger zu beherrschen vermag. Weiteren Studien möge es vorbehalten sein, hierüber Aufschluss zu bringen.

Dass diese Versuche überhaupt erwähnt wurden, hat seinen Grund in einer Beobachtung von Bonaduce. Dieser hielt Serum, welches theils mit abgestorbenen Milzbrandbacillen versetzt, theils ohne Zusatz war, 3 Tage lang bei 39,3°. Inficirte er es hierauf mit Milzbrand, so fand in den sterilen Proben bessere Entwickelung statt als in jenen, welche die todten Bacillen enthielten. Er schliesst daraus, dass »dieselben todten Bacillen, welche mit den lebendigen gleichzeitig in das Serum eingesät, die Entwickelung begünstigen, jetzt, nachdem sie einige Zeit bei Körpertemperatur mit dem Serum in Berührung geblieben sind, andere Substanzen entwickeln, welche das Wachsthum hemmen«. Diese Substanzen bezeichnet Bonaduce nach Kruse als Antilysine.

Mit den obigen Experimenten scheint auf den ersten Blick dieses Resultat des italienischen Forschers sehr gut übereinzustimmen. Doch lehrt eine nähere Ueberlegung, dass es sich dabei um etwas Anderes handeln müsse. Abgesehen davon, dass es nach dem Ausfalle der Thierimpfungen fraglich ist, ob die Milzbrandbacillen Bonaduce's wirklich abgestorben waren, so kann ein Serum, welches 3 Tage bei 39° gestanden hatte, zu einem bactericiden Versuche umsoweniger geeignet sein, als Bonaduce kurz vorher (S. 366) selbst bemerkt, dass nach 3tägiger Aufbewahrung bei 39° das keimwidrige Vermögen stets geschwunden sei. Es kann sich daher in Bonaduce's Versuchen kaum um einen vom Serum selbst ausgehenden, milzbrandschädigenden Einfluss gehandelt haben, also auch von einer Art Regeneration der Alexine nicht die Rede sein. Bonaduce selbst vermuthet, dass die Bacillen die entwickelungshemmende Substanz »entwickeln«, wenn man sich auch die Art und Weise dieses Vorganges schwer vorstellen kann.

VIII. Versuche über den Antheil löslicher Stoffwechselproducte an der Paralysirung der Alexine.

Im Anschlusse an die Ergebnisse der Arbeit von Schneider[1]) wurden einige Versuche angestellt, welche es als möglich erscheinen lassen, dass auch bei Zusatz von sterilisirten Bouillonculturen zum Serum die Bacterienleiber beim Unwirksamwerden desselben eine Rolle spielen.

Tabelle XLI.

Kaninchenserum in 5 Röhrchen zu je 1 ccm, von denen 4 mit alter Staphylococcenbouilloncultur versetzt werden. Diese wurde durch 1/2 Stunde Verweilen im siedenden Wasserbade sterilisirt und die Hälfte davon durch Berckefeldfilter filtrirt. Einsaat: Staphylococcus.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 1/2 h
1. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm nichtfiltrirter Bouilloncultur	2 664	704	71 300
2. 1 ccm Serum u. 0,5 ccm nichtfiltrirter Bouilloncultur	2 534	2 172	384 500
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm filtrirter Bouilloncultur	2 912	164	87
4. 1 ccm Serum u. 0,5 ccm filtrirter Bouilloncultur	2 576	1 136	316 000
5. 1 ccm Serum u. 0,5 ccm steriler Bouillon	2 840	128	101

Tabelle XLII.

Kaninchenserum. Anordnung wie vorher. Die benutzten Bouillonculturen von Staphylococcus und Bac. typhi sind 14 Tage alt, bei 37° gehalten Einsaat: Staphylococcus.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
1. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm nicht filtr. Staphylococcenbouillon	1 120	784	1 328
2. 1 ccm Serum u. 0,3 ccm nicht filtr. Staphylococcenbouillon	984	2 416	62 040
3. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm filtr. Staphylococcenbouillon	1 254	22	51
4. 1 ccm Serum u. 0,3 ccm filtr. Staphylococcenbouillon	992	53	6 980

1) Siehe Anmerkung 1 auf Seite 295.

	Sofort	Nach 3 h	Nach 6 h
5. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm nicht filtr. Typhus-bouillon	1 056	16	192
6. 1 ccm Serum u. 0,3 ccm nicht filtr. Typhus-bouillon	1 040	320	188
7. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm filtr. Typhus-bouillon	1 128	7	280
8. 1 ccm Serum u. 03, ccm filtr. Typhus-bouillon	960	5	23
9. 1 ccm Serum u. 0,1 ccm steriler Bouillon	1 048	8	16
10. 1 ccm Serum u. 0,3 ccm steriler Bouillon	944	8	27

Im letzten Versuche tritt wiederum eine auffallend specifische Wirkung auf die Serumalexine zu Tage. Ueberdies wirken die coccenhaltigen sterilen Proben entschieden stärker als die keimfreien Filtrate. Bei Anwendung grösserer Mengen der erhitzten Bouillonculturen begünstigen auch die filtrirten Zusätze das Bacterienwachsthum in hohem Grade, wobei aber darauf hingewiesen werden muss, dass jede ältere Bouilloncultur ausgelaugte Zellbestandtheile enthält. (Buchner.)

Es soll jedoch damit keineswegs geläugnet werden, dass nicht auch lösliche Stoffwechselproducte der Bacterien die Activität des Serumeiweisses direct beeinflussen könnten, wofür vielerlei Angaben sprechen. So hat auch das Schlangengift, dessen Aehnlichkeit mit den Bacterientoxinen es zum Gegenstand grosser Aufmerksamkeit gemacht hat, nach Ewing[1]) die Eigenschaft, die bactericide Fähigkeit des Blutes herabzumindern.

IX. Ergebnisse.

Durch die im Thatsächlichen übereinstimmenden Versuche von Nissen, Bastin und Denys und Kaisin ist festgestellt, dass die Einführung grosser Mengen von Bacterienzellen, lebender oder todter, in das Gefässsystem eines Thieres die bactericide Wirksamkeit des nachträglich entnommenen Blutes herabmindert oder vernichtet.

1) Ewing, The Cancet, 1894, S. 1237.

Im extravasculären Blute äussert sich dieselbe Erscheinung so, dass bei sehr grosser Einsaat eine Alexinwirkung nicht mehr auftritt, eine Thatsache, die seit jeher von allen Untersuchern übereinstimmend beobachtet wurde. Statt grosse Mengen lebender Bacterien anzuwenden, kann man dem Serum auch todte Zellleiber zusetzen, wodurch das gleiche Resultat erzielt wird, wie die Versuche von Bonaduce, Denys und Kaisin und die vorliegenden beweisen.

Ein directer Widerspruch zwischen den Arbeiten von Nissen einerseits und denen von Bastin und Denys und Kaisin andererseits liegt darin, dass ersterer das nach Bacterieninjection veränderte Blut nur für den gleichartigen Mikroorganismus unwirksam fand, was die letzteren nicht bestätigen konnten. Dieser Widerspruch klärt sich nach den erwähnten Untersuchungen leicht auf.

Für jeden der untersuchten Stämme von Bacterienarten gibt es eine gewisse Minimaldosis abgetödteter Zellleiber, welche erst hinreicht, um eine bestimmte Serumquantität unwirksam zu machen. Diese als »Grenzwerth« bezeichnete Dosis minima ist für die verschiedenen Arten und Stämme sehr verschieden gross, und zwar lässt sich nachweisen, dass dieser Grenzwerth umso niedriger liegt, je höher die Widerstandskraft der betreffenden Art gegenüber den Serumalexinen ist.

Versetzt man Serum mit, den Grenzwerthen verschiedener Arten entsprechenden Mengen todter Zellen und sät in dasselbe eine bestimmte, lebende Art ein, so vermag diese im allgemeinen nur in jenen Proben zu wachsen, welche die gleichnamigen todten Bacterienleiber enthalten. In diesem Sinne ist die Wirkung der abgetödteten Zellen eine specifische und erklärt die Angaben von Nissen.

Man kann nun die gegenseitige Beeinflussung von Alexinen und Bacterien in der Weise auffassen, dass beide, als actives Plasma, mit den ihnen zu Gebote stehenden Mitteln auf einander einwirken und zwar solange, bis die ersteren oder letzteren das Uebergewicht erlangen und damit völlige Keimvernichtung oder ungehindertes Wachsthum erfolgt.

Für die Bacterien kommen in diesem Kampfe gegen die Alexine zwei Momente in Betracht: 1. Die Menge, in welcher sie in das Serum gelangen; Beweis dafür ist das oft erwähnte Gesetz, dass zwischen dem Umfange der Keimvernichtung und der Grösse der Einsaat bestimmte Beziehungen bestehen. 2. Die specifische Constitution des Bacterienprotoplasmas; Beweis dafür ist die Thatsache, dass verschiedene Arten bei gleicher Einsaat in demselben Serum verschieden stark angegriffen werden.

Setzt man dem Serum gleichzeitig todte Zellleiber zu, so wirken auch diese, mit den gleichen Eigenschaften auf die Alexine ein, was sich durch die Formel $A = (s + m) + (\sigma + \mu)$ ausdrücken lässt.

Diese Formel besagt, dass die Activitäten des Zellprotoplasmas und des Serums sich so lange zu beeinflussen suchen, bis ein Gleichgewichtszustand erreicht ist und stellt eine Function zweier variabler Grössen dar.

Von den zwei Factoren, welche rechts vom Gleichheitszeichen stehen, bezeichnet der eine, $s + m$, die Widerstandskraft der lebenden Bacillen, welche der bactericiden Werthigkeit, also dem Alexingehalt des Serums, umgekehrt proportional ist.

Der Factor $(\sigma + \mu)$, welcher den Einfluss der todten Zellen zum Ausdrucke bringt, verhält sich ähnlich.

In Versuchen, bei denen man die Einsaatmenge lebender Bacillen immer gleich gross nimmt, wird in $(s + m)$ der Factor m constant und kann vorläufig ausser Acht bleiben.

Einen je grösseren Antheil der Summe $s + (\sigma + \mu)$ dann der Theil s ausmachen kann, d. h. je grösser die Widerstandskraft der lebenden Bacillen ist, umso kleiner kann $(\sigma + \mu)$ werden. Umgekehrt kann man dadurch, dass man $(\sigma + \mu)$ vergrössert, einen etwaigen Mangel an s ersetzen, d. h. durch Vermehrung der Menge der zugesetzten Bacterienleiber, unter Berücksichtigung der specifischen Constitution ihres Protoplasmas, auch eine, sonst im Serum sehr labile Art zum Wachsthum bringen.

In diesem Sinne stellt sich die anscheinend qualitativ specifische Wirkung todter Bacterien als lediglich quantitativ heraus.

Dadurch, dass Bastin und Denys und Kaisin bei ihren Versuchen offenbar grössere Mengen todter oder lebender Bacterien anwendeten, erklären sich ihre, von denen Nissens abweichenden Resultate.

Bezüglich der Natur des Einflusses todter Bacterienzellen konnte eine enzymartige Wirkung, für die Manches zu sprechen schien, nicht nachgewiesen werden.

Der Umstand, dass nach Entfernung der todten Bacterienleiber durch Centrifugiren eine Erneuerung der bactericiden Effecte nicht wieder eintritt, und dass diese Ausschaltung der Alexine fast augenblicklich erfolgt, lässt darauf schliessen, dass eine Verbindung des activen Plasmas der Zellleiber mit den activen Eiweisskörpern des Serums, den Alexinen, stattfindet.

Es ist wahrscheinlich, dass diese Verbindung sich als sehr labil erweist, und dass bereits ein länger dauernder Aufenthalt bei 37° genügt, um die locker gebundenen Alexine wieder frei und wirksam zu machen.

Zur Biologie der Milzbrandbacillen.

Von

Dr. **Richard Weil**, Apotheker.

(Aus dem Institute für Hygiene und Bacteriologie an der Universität Strassburg i. E.)

Im Jahre 1876 wies Cohn[1]) zum ersten Mal bei Bacterien die Existenz von Dauerformen, der sogenannten Sporen, nach. Er beschreibt sie als ölige, stark lichtbrechende Gebilde, die die Fähigkeit besitzen, in frischen Nährlösungen zur vegetativen Wuchsform wieder auszukeimen. Weiter sprach er die Vermuthung aus, dass bei den Milzbrandbacillen ebenfalls solche Dauerformen zu erwarten seien.

Es verging nur kurze Zeit, bis Koch[2]) in seiner »Aetiologie der Milzbrandkrankheit«, begründet auf die Entwickelungsgeschichte des Bacillus Anthracis, die Vermuthung Cohn's bestätigte, indem er mikroskopisch die Sporen auffand.

Nach Koch vermehren sich die Milzbrandbacillen im Blute und in den Gewebesäften des lebenden Thieres durch Verlängerung der einzelnen Stäbchen und darauf erfolgende Quertheilung; jedoch findet man im lebenden Körper immer nur ganz kurze Fäden, die nur aus einigen wenigen Gliedern bestehen. Anders im Blute des todten Thieres oder in geeigneten sonstigen Nährflüssigkeiten; hier wachsen die Bacillen meist zu langen Fäden aus unter Bildung zahlreicher Sporen. Diese Sporenbildung soll aber nur bei Luftzutritt und innerhalb gewisser

1) Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen, S. 263, 275, 279 bis 281.

2) Koch, Die Aetiologie der Milzbrandkrankheit, begründet auf die Entwickelungsgeschichte des Bacillus Anthracis. Ebenda.

Temperaturgrenzen vor sich gehen, Temperaturgrenzen, die sich zwischen 40 und 16° C. bewegen.

Zwischen 30 und 40° C. ist das Wachsthum und die neue Sporenbildung gewöhnlich schon nach 24 Stunden beendet. Bis zu 25° C. nimmt die hierzu erforderliche Zeit zu und steigt auf ungefähr 35 bis 40 Stunden. Unter 25° C. macht sich die Temperaturabnahme sehr schnell im negativen Sinne bemerklich. Bei 23° C. sind bis zur Sporenbildung schon 48 bis 50 Stunden, bei 21° C. 72 Stunden erforderlich; bei 18° zeigen sich die ersten Sporen nach ca. 5 Tagen, bei 16° nach 7 Tagen, und zwar wird die Sporenbildung immer spärlicher; unter 15° hört das Wachsthum und die Sporenbildung auf. Die schönsten und kräftigsten sporenhaltigen Culturen wurden zwischen 20 und 25° erhalten.

Alle diese Resultate gewann Koch durch directe Beobachtung unter dem Mikroskop. Im wesentlichen wurden die Untersuchungen Koch's von sämmtlichen Forschern, die sich mit der Frage der Sporenbildung bei den Anthraxbacillen beschäftigt haben, bestätigt. Von den Autoren werden als physiologische Bedingungen der Sporenbildung gewöhnlich angeführt:

1. ein geeigneter Nährboden;
2. ungehinderte Zufuhr von Sauerstoff;
3. eine Temperatur von 16 bis 40°.

Während nun Fränkel[1]), Behring[2]), Lehmann[3]) und Osborne[4]) durch ihre Untersuchungen zu der Meinung gekommen sind, dass das Auftreten der Sporen gerade dann vor sich gehe, wenn die Bacillen bei reichlicher Ernährung sich im Wachsthumsoptimum befinden, verursacht nach Buchner[5])

1) Fränkel, Grundriss der Bacterienkunde, 1891.

2) Behring, Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes, Zeitschr. für Hygiene, Bd. 6, S. 126 und Bd. 7, S. 171, 1889.

3) Lehmann, Ueber einige Bedingungen der Sporenbildung beim Milzbrand. Sitzungsbericht der phys. und med. Gesellschaft zu Würzburg, 1890.

4) Osborne, Die Sporenbildung des Milzbrandbacillus auf Nährböden von verschiedenem Gehalt an Nährstoffen. Arch. f. Hyg., Bd. 11, S. 54, 1890.

5) Buchner, Ueber die Ursache der Sporenbildung beim Milzbrandbacillus. Centralbl. f. Bact. und Paras., Bd. 8, S. 3, 1890.

gerade der Mangel an Nährmaterial das Zustandekommen der Dauerformen. Der Buchner'schen Auffassung nahe steht die Ansicht Schreiber's[1]), der auf Grund zahlreicher Versuche zu folgenden Resultaten kam:

1. Dauerndes, lebhaftes Wachsthum unter den günstigsten Bedingungen ruft niemals Sporenbildung hervor.
2. Ungenügende Ernährung und ungünstige äussere Bedingungen stellen die Sporenbildung sehr in Frage, beziehungsweise heben sie ganz auf.
3. Plötzliche Hemmung des Wachsthums nach vorausgegangener guter Ernährung veranlasst zu jeder Zeit sofort schnell und vollständig Sporenbildung.
4. Wahrscheinlich wird durch eine Ungleichheit in der Zusammensetzung des Nährbodens oder auch durch Erschöpfung desselben die endogene Sporenbildung veranlasst. Im Sinne Schreiber's müssen wir uns eine Ungleichheit der Zusammensetzung derart vorstellen, dass bei der Theilung der Bacillen in dem ursprünglich für das Wachsthum günstigen Nährboden Stoffe entstehen, die das Wachsthum der vegetativen Formen hemmen und dadurch die Veranlassung zum Auftreten der Dauerformen geben.

Als weitere Bedingung für das Zustandekommen der Sporen erwähnen die Forscher, wie oben schon berichtet, eine reichliche Zufuhr von Sauerstoff, während nach Buchner wohl der Sauerstoff das Wachsthum der vegetativen Formen begünstigt, aber keinen specifischen Einfluss auf die Sporenbildung ausübt.

Was ferner den dritten Punkt anlangt, bei welchen Temperaturen die Sporenbildung vor sich geht, so wurde diese Frage entweder nicht berücksichtigt, oder da, wo sie Berücksichtigung fand, sehr verschieden beantwortet. Während nach Koch bei 35° C., dem Temperaturoptimum, vom Milzbrandbacillus schon

1) Schreiber, Ueber die physiologischen Bedingungen der endogenen Sporenbildung bei Bacillus Anthracis, subtilis und tumescens. Centralbl. f. Bact. und Paras., Bd. 20, S. 431, 1896.

nach 20 Stunden Sporen gebildet werden, hält Baumgarten[1]) 30° für die günstigste Temperatur zur Sporenbildung, und über 34° bleibt nach ihm dieselbe sogar unter den günstigsten Bedingungen aus. Behring a. a. O. fand dagegen, dass in einer mit Pepton und Kochsalz versetzten, schwach alkalisch gemachten Bouillon noch bei 36° nach 16 stündigem Stehen im Brütschrank sehr reichliche Sporenbildung erfolgte. Buchner beobachtete, dass destillirtes Wasser und ein gewisser Gehalt an Kochsalz in der Nährlösung entschieden die Entwickelung der Sporen beschleunigt; bei einem Zusatze von 2% Kochsalz war die Vermehrung geringer, nach 24 Stunden aber die Sporenbildung vollendet.

Schreiber bestätigt bei einer Nachprüfung den Buchnerschen Befund und fügt hinzu, dass der Entwickelungsgang beim Milzbrandbacillus im destillirten Wasser um 18, in der 2 proc. Kochsalzlösung um 20 Stunden abgekürzt werde; er veröffentlicht am Schlusse seiner Arbeit in einer Tabelle die Zeiten, in welchen bei ihm in einer Nährlösung von 1% Liebig's Fleischextract + 1% Pepton die Sporenbildung stattfand. Dieselbe erfolgte:

Bei	14°	nach	10	Tagen
»	15°	»	8	»
»	20°	»	96	Stunden
»	25°	»	84	»
»	30°	»	62	»
»	34°	»	48	»
»	37°	»	40	»
»	40°	»	36—40	»
»	42°	»	40	»

Aus vorstehenden Angaben können wir leicht ersehen, dass betreffs des Temperaturminimums der Sporenbildung, als welches Koch eine Temperatur von ungefähr 15° C. angibt, keine erheblichen Differenzen, in der Literatur existiren.

---

1) Baumgarten, Lehrbuch der pathologischen Mykologie, 1890.

Auch Kitasato[1]) fand, dass schon bei einer Temperatur von 13,5 bis 15,5° Sporen gebildet wurden; Schreiber beobachtete das Auftreten der Dauerformen bei 14° C.

Ebenso sind die Berichte über das Temperaturmaximum der Sporenbildung — 40 bis 42° C. — ziemlich gleichlautend.

In den Angaben über das Temperaturoptimum aber finden wir solch weitgehende Verschiedenheiten, dass die einen Autoren 30° C, die andern 35° als günstigste Temperaturen zur Bildung der Dauerformen angeben, während wieder andere behaupten, Wachsthums- und Sporenbildungsoptimum liegen bei 37°; einige Angaben hierüber werde ich später noch bringen.

Liegt es nun aber auch wirklich in der Natur eines Milzbrandstammes, bei 30° am schnellsten und üppigsten Sporen zu bilden, während dies beim andern erst bei 37° der Fall sein soll? Könnten da nicht äussere, noch zu ergründende Umstände in der Behandlung der Stämme ein und derselben Art der Grund der verschiedenartigen Forschungsergebnisse sein? Sollte man durch die Berücksichtigung aller Nebenumstände kein gesetzmässiges Verhalten der Sporulation dieses pathogenen Parasiten auffinden können?

Dass der Nährboden bei gleicher Temperatur, bei einem so anspruchslosen Pilze, der sogar in destillirtem Wasser Sporen erzeugt, der Grund des so verschiedenen Eintrittes der Bildung von Dauerformen sein könnte, ist a priori unwahrscheinlich, wenn schon bei sonst gleichen Bedingungen die Ernährung der vegetativen Formen auf ihr Wachsthum und die Gesammtenergie der Sporen einen gewissen Einfluss auszuüben scheint.

Der wirkliche Grund der so verschiedenen Resultate der Forschungen liegt vielleicht darin, dass den Untersuchern als Reagens für den Eintritt der Sporenbildung nur ihre Wahrnehmung an dem mikroskopischen Bilde zu Gebote stand.

Um zu beweisen, wie ausserordentlich schwierig es ist, mikroskopisch gerade den Moment wahrzunehmen, in dem die vege-

---

1) Kitasato, Untersuchungen über die Sporenbildung des Milzbrandbacillus in verschiedenen Bodentiefen. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 8, S. 199, 1890.

tative Form in die Spore übergeht, lasse ich eine Beschreibung dieses Vorganges von de Bary[1]) folgen:

»Der Beginn der Sporenbildung in einer Zelle wird angezeigt dadurch, dass meist dicht an einer Endfläche in dem Protoplasma ein kleiner, rundlicher, stark lichtbrechender Körper auftritt. Er sieht, um das Wenige, was man erkennen kann, rein anschaulich zu beschreiben, zuerst aus, als ob eines der erwähnten stark lichtbrechenden Körnchen im Protoplasma etwas grösser geworden wäre. Besagter Körper nimmt zusehends an Volumen zu, während die ihn umgebende Protoplasmamasse successive schwindet. Nach wenigen Stunden ist er herangewachsen zu einem länglich - cylindrischen Körper, der sich durch sein späteres Verhalten als Spore erweist.«

Einer Anregung Herrn Professor Forster's leistete ich daher gerne Folge, nach einer andern Methode, die wir, im Gegensatz zur mikroskopischen Beobachtung, kurz die biologische Methode nennen wollen, der Frage des Beginns der Sporenbildung bei verschiedenen Temperaturen näher zu treten. Es sollten durch eine möglichst kurz dauernde Erhitzung auf eine erhöhte Temperatur die vegetativen Formen der Milzbrandbacillen abgetödtet werden; ist dies möglich, ohne die Dauerformen wesentlich zu beeinträchtigen, so ergibt sich von selbst eine Methode, die es gestattet, den Moment aufzufinden, in dem die vegetativen Formen die ersten vollendeten Sporen geliefert haben. Aehnliche Versuche führte schon Roux[2]) aus; er züchtete Milzbrandbacillen bei 42,5°, erhitzte dieselben 15 Minuten lang auf 65° zur Abtödtung der vegetativen Formen und suchte aus der Entwicklung oder dem Sterilbleiben der Röhrchen festzustellen, ob sich bei 42,5° noch Sporen gebildet hatten, oder ob asporogener Milzbrand entstanden war.

Dank dem Umstande, dass sich im geschlossenen Thierkörper niemals Sporen bilden, steht reichlich sporenloses Milzbrandmaterial stets zur Verfügung. Man ist daher im Stande,

1) De Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze.

2) Roux, Bactéridie charbonneuse asporogène. Ann de l'inst. Pasteur, t. 4, S. 25, 1890.

getrennt sporenfreies und sporenhaltiges Material einer schädigenden Behandlung, z. B. der Erhitzung, zu unterwerfen und die Temperaturhöhen zu bestimmen, bei welchen wohl die vegetativen Formen, nicht jedoch die Sporen vernichtet werden. Ist dies einmal geschehen, so ist es ein Leichtes, in irgend einem Material das Auftreten von Milzbrandsporen unter Ausschluss der vegetativen Formen nachzuweisen.

In ähnlicher Weise, wie dies durch van Geuns[1]) bezüglich verschiedener Bacterien und durch de Man[2]) bezüglich der Tuberkelbacillen in Professor Forster's Laboratorium gezeigt worden ist, hatte Professor Forster durch vielfache Versuche festgestellt, dass die Milzbrandbacillen der verschiedensten Stämme durch eine, 1 Minute dauernde Erhitzung auf 80° abgetödtet werden. Dieses Resultat habe ich bei einer Nachprüfung auch an dem von mir in Arbeit genommenen Anthrax-Stamme bestätigt. Wie bei den oben erwähnten Bacterien in den Versuchen von van Geuns und de Man, erfolgt übrigens auch bei den Milzbrandbacillen die Abtödtung um so weniger rasch, je niedriger die Abtödtungstemperatur ist, und umgekehrt. Dies zeigen die folgenden Versuche, in welchen ich unter Beobachtung der zu solchen Bestimmungen nöthigen, im hiesigen Institute üblichen Maassregeln den Abtödtungsgrenzen der Anthraxbacillen in Nährbouillon bei 79, 78, 75, 70 und 65° nachgegangen bin. Dass in der Nähe der Temperaturgrenzen für die Abtödtung in verschiedenen Versuchen nicht völlig gleichmässige Resultate erhalten wurden, braucht im Hinblick auf die bekannten Schwierigkeiten — s. unten — bei der Ausführung solcher Versuche nicht Wunder zu nehmen, und ist übrigens ein Anzeichen dafür, dass diese Grenzen für verschiedene Bacterien verhältnismässig scharf festzustellen sind.

Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tabelle I übersichtlich zusammengestellt.

---

1) Van Geuns, Ueber das »Pasteurisiren« von Bacterien, ein Beitrag zur Biologie der Mikroorganismen. Arch. f. Hyg., Bd. 9, S. 369, 1889.

2) De Man, Ueber die Einwirkung von hohen Temperaturen auf Tuberkelbacillen. Arch. f. Hyg., Bd. 18, S. 165, 1893.

Tabelle I.

Temperatur	Dauer der Einwirkung	Erfolgte darauf noch eine Entwickelung?	Resultat: die Bacillen waren stets abgetödtet:
80° C.	30 Secunden	+ [1]	
	40 »	+	
	45 »	+	
	50 »	+ 0	
	60 »	stets 0	bei 80° nach einer Minute.
79° C.	50 Secunden	+	
	60 »	+	
	70 »	+	
	80 »	+ 0	
	90 »	stets 0	bei 79° nach 1½ Minuten
78° C.	70 Secunden	+	
	80 »	+	
	90 »	+	
	100 »	+ 0	
	110 »	+ 0	
	120 »	stets 0	bei 78° nach 2 Minuten.
75° C.	1½ Minuten	+	
	2 »	+	
	2½ »	+ 0	
	3 »	stets 0	
	3½ »	stets 0	bei 75° nach 3 Minuten.
70° C.	2½ Minuten	+	
	3 »	+	
	3½ »	+ 0	
	4 »	stets 0	bei 70° nach 4 Minuten.
65° C.	3½ Minuten	+	
	4 »	+	
	4½ »	+	
	5 »	+ 0	
	5½ »	stets 0	bei 65° nach 5½ Minuten.

1) + bedeutet: es erfolgte nach einer Erhitzung, die Secunden oder Minuten dauerte, bei den verschiedenen Temperaturen in den Bouillonröhrchen der normale Entwicklungsgang der Bacillen, nämlich Wachsthum, Sporenbildung und Auskeimung der letzteren.

0 bedeutet: die Milzbrandbouillon blieb nach der Erhitzung steril.

+ 0 bedeutet: bei den Abkömmlingen der Bacillen ein und desselben Stammes erfolgte an den Abtödtungsgrenzen das eine Mal eine Entwickelung, während sich andere Male die Bouillonröhrchen nach der gleichen Erhitzung als steril erwiesen.

Dass wirklich eine Abtödtung und keine Entwicklungshemmung vorlag, wies ich dadurch nach, dass die Original-Bouillonröhrchen, die ich bis zu 14 Tagen bei 37° hielt, und Gelatinestiche hieraus, die öfters wiederholt wurden, nach wochenlangem Stehen im Thermostaten von 26° steril blieben, und Mäuse, welchen gegen das Ende der Beobachtung je 1 ccm der betreffenden Milzbrandbouillon injicirt wurde, keine Spur von Erkrankung zeigten.

Ich kann mir das Resultat Bormanns[1]), dass die vegetative Form der Milzbrandbacillen zuweilen eine grosse Widerstandsfähigkeit gegen Hitze besässe und in manchen Fällen länger als eine Stunde 80° zu ertragen vermöge, nur dadurch erklären, dass die Erwärmung seiner Culturflüssigkeiten nicht richtig geleitet wurde, oder dass er Material verwendete, in welchem bereits Dauerformen enthalten waren.

Mit welcher Vorsicht man übrigens bei derartigen Erhitzungsversuchen zu Werke gehen muss, um sicher zu sein, dass die Bacterien auch wirklich die gewünschte Zeit unter dem Einflusse eines bestimmten Wärmegrades gestanden sind, darauf macht Prof. Forster[2]) in einem Nachtrag zur van Geuns'schen Arbeit aufmerksam. Entsprechend den bei diesen und den de Man'schen Versuchen gemachten Erfahrungen führte ich die Abtödtungsversuche, die nur kurze Zeit in Anspruch nahmen, also bei 78, 79 und 80° in sterilisirten, zu Pipetten ausgezogenen Glasröhrchen aus, deren unterer abgeschnürter Theil mit sporenloser Milzbrandbouillon gefüllt und hierauf am Bunsenbrenner zugeschmolzen wurde. Diesen Theil der Röhrchen brachte ich in heisses Wasser, das vermittelst Thermoregulators auf die gewünschte Temperatur eingestellt war. Wir hielten stets darauf, dass der Erwärmungsapparat grosse Wassermengen enthielt und bereits eine Stunde vorher die nöthige Temperatur, unter beständigem Rühren des Wassers, durch ein öfters controlirtes Thermometer angezeigt

1) Bormanns, Azione del siero di sangue di certi animali sulla sporificazione del bacillo carbonchioso (Atti della Direzione di Sanità pubblica, Roma).

2) Siehe v. Geuns, a. a. O.

wurde. Unmittelbar nach der Herausnahme wurden die Pipetten im laufenden Wasser gekühlt, unter aseptischen Cautelen die Glasspitze abgebrochen und der Inhalt in Bouillonröhrchen bei 37° zur Entwickelung hingestellt. Die länger dauernden Versuche wurden direct in Reagenzgläsern in obiger Weise ausgeführt; dabei ist es jedoch geboten, um Abkühlungen im Thermostaten im Zusammenhang mit den grösseren Flüssigkeitsmengen der Culturröhrchen möglichst zu vermeiden und um die Anwärmung zu beschleunigen, die Röhrchen durch 10 Secunden langes Hin- und Herbewegen in warmem Wasser ungefähr auf die gewünschte Temperatur zu bringen. Dass bei dieser Procedur sowie beim Impfen ein Haftenbleiben der Bacillen oberhalb der Flüssigkeitssäule sorgfältig vermieden wurde, braucht wohl, in Erinnerung an die Erfahrungen von van Geuns, nur eben erwähnt zu werden.

Werden nun aber auch die Sporen durch die Erhitzung auf 80° in ihrer Resistenzfähigkeit nicht geschädigt?

Der mir zur Verfügung gestellte Sporenstamm, den ich der Kürze halber mit MI bezeichne, rührte von Bacillen her, die Herr Dr. Bruns, Assistent am Institute, aus frischem Thiermaterial gewonnen hatte. Nach 14tägigem Wachsthum auf Kartoffelscheiben bei 37° zeigte ein hiervon angefertigtes mikroskopisches Präparat, dass die Sporen schon grösstentheils frei waren; nur einzelne lagen noch in perlschnurartigen Reihen; ebenso waren noch kürzere Ketten vegetativer Formen aufzufinden. Dieser Kartoffelbelag sollte mir vorerst als Ausgangsmaterial für alle Thierimpfungen und Erhitzungsversuche dienen. Es war mir vor allem darum zu thun, zunächst die Eigenschaften dieser Sporen in Bezug auf ihre Virulenz und Resistenz genau zu bestimmen, da Migula[1]) und andere Forscher angeben, dass sich die einzelnen Milzbrandrassen völlig verschieden verhalten, und dass auch die Sporenbildung zu ganz verschiedenen Zeiten eintrete.

Die Virulenz meiner Cultur war normal; sie tödtete Meerschweinchen innerhalb 36, Mäuse innerhalb 24 Stunden. Zur

1) Migula, System der Bacterien, 1897, S. 173.

Bestimmung der Resistenz verfuhr ich folgendermaassen: von dem weissen Kartoffelbelag schabte ich einen kleinen Theil mit sterilem Platinspatel ab, rieb ihn gleichmässig im sterilisirten Mörser mit Wasser an und brachte eine geaichte Platinspirale von 40 mg dieser Aufschwemmung in je ein Röhrchen Löffler-scher Bouillon. Die Röhrchen wurden 10 Secunden angewärmt, in Wasser von 100° gebracht, nach der Erhitzung gekühlt und bei 37° zur Auskeimung hingestellt.

Dabei kam ich zu folgenden Werthen:

Tabelle II.

Temperatur 100°		
Dauer der Erhitzung	Keimten die Sporen aus?	Gelatine-controlstiche
1 Minute	+	+
2 Minuten	+	+
3 »	+	+
4 »	+	+
5 »	+	+
6 »	+	+
7 »	+	+
7½ »	0	0
8 »	0	0
9 »	0	0

Obige, mit Sporenaufschwemmung geimpfte Bouillonröhrchen sahen nach der, 1 bis 9 Minuten langen Erhitzung auf 100° trübe aus; die Trübung konnte von lebendem, wie auch durch die Erhitzung abgetödtetem Sporenmaterial herrühren; indem ich nun aus den neun Röhrchen wiederholt in Gelatine überimpfte, konnte ich mich leicht überzeugen, ob die Trübung in den Originalröhrchen von lebendem oder todtem Sporenmaterial verursacht war; Gelatinecontrolstiche aus den Röhrchen, die nur 1 bis 7 Minuten auf 100° erhitzt waren, zeigten das typische, tannenbaumähnliche Wachsthum, herrührend von ungeschädigten Sporen; Gelatinecontrolstiche aus den Originalröhrchen, die 7½ bis 9 Minuten auf 100° erhitzt waren, blieben steril, sowie sich auch die Trübung der diesbezüglichen Original-

röhrchen bei Brutwärme nicht vermehrte, ein Beweis dafür, dass die Sporen durch die Erhitzung abgetödtet waren.

Die Sporen ertrugen mithin über 7 Minuten lang das Kochen, waren also von erheblicher Resistenz. Schon aus diesen Resultaten geht hervor, dass an eine wesentliche Schädigung der Widerstandsfähigkeit bei diesen Sporen durch die nur kurze Erhitzung auf 80° nicht zu denken ist. Immerhin aber war es meine Pflicht, zu beweisen, das dem nicht so ist.

Drei geaichte Platinspiralen der Emulsion übertrug ich zu diesem Zwecke in 30 ccm Bouillon; ich war bestrebt, durch vielfach wiederholtes Schütteln die Sporen fein zu vertheilen, um nach der Abmessung von 5 ccm mittels einer sterilen Pipette in je sechs Reagenzgläser (= R_1 — R_6) ungefähr die gleiche Anzahl Sporen zu bringen.

Von R_1 wurde direct durch Uebertragung von einer Oese zu 1,6 mg in Agar eine Zählplatte angefertigt.

R_2 wurde 1 Minute auf 80° erhitzt,
R_3 6 Minuten,
R_4 10 Minuten,
R_5 12 Minuten,
R_6 16 Minuten;

mit 1,6 mg wurden sodann Platten gemacht, und nach zwei und fünf Tagen die bei Brutwärme aufgegangenen Colonien gezählt und die letzteren in Anrechnung gebracht. Es wuchsen:

auf Platte R_1: 384 Colonien,
» » R_2: 320 »
» » R_3: 196 »
» » R_4: 220 »
» » R_5: 208 »
» » R_6: 128 »

Die Versuche, mehrere Male wiederholt, ergaben entsprechende Werthe. Als ich die Zeit der Erhitzung auf 25, 30 und 40 Minuten ausdehnte, kam ich zu den unten angegebenen Ziffern, während auf der, mit 1 Minute erwärmten Material angefertigten Platte 526 Colonien gewachsen waren.

Auf Platte A (Impfmaterial 25 Minuten auf 80° erhitzt) entstanden 40 Colonien,

auf Platte B (Impfmaterial 30 Minuten auf 80° erhitzt) entstanden 53 Colonien,

auf Platte C (Impfmaterial 40 Minuten auf 80° erhitzt) entstanden 16 Colonien.

Wenn infolge der — in Wirklichkeit zum zweiten Male ausgeführten — 1 Minute langen Erhitzung auf 80° auf Platte R_2 64 Colonien weniger aufgingen, so kann man annehmen, dass einige mehr oder minder schwache Dauerformen der Wärme zum Opfer gefallen sind; eine wesentliche Schädigung der Sporen aber durch die kurze Erhitzung von 1 Minute auf 80° findet offenbar nicht statt.

Die Möglichkeit, stets genau dieselbe Menge Bacterienaufschwemmung zu übertragen, war mir durch die Anwendung geaichter Häckchen und Spiralen von Platin ermöglicht, welche Prof. Forster im hiesigen Institute als Messinstrumente eingeführt hat.

Ausgerüstet mit der Kenntnis der beiden Thatsachen, dass die vegetativen Formen des Bacillus Anthracis nach einer, 1 Minute andauernden Erhitzung auf 80° abgetödtet werden, und dass dabei die Sporen keine wesentliche Schädigung erleiden, konnte ich jetzt an die Frage herantreten, nach welcher Zeit aus den vegetativen Formen sich Sporen entwickeln. In Bouillonröhrchen, die mit vegetativem, sporogenem Milzbrandmaterial geimpft sind, müssen in geeigneter Temperatur innerhalb eines gewissen Zeitraums Dauerformen auftreten. Erhitze ich nun beispielsweise derartige Röhrchen nach 20stündigem Verweilen im Thermostaten von 37° eine Minute auf 80°, so wissen wir aus unseren Vorversuchen, dass allenfalls noch vorhandene vegetative Formen abgetödtet werden; kühle ich sofort diese Röhrchen und bringe sie von Neuem in den Thermostaten, so kann eine nun etwa eintretende Entwickelung nur von ausgekeimten Sporen herrühren, die innerhalb der oben angegebenen 20 Stunden bei 37° entstanden waren.

Falls nun hierbei noch der Beweis geführt werden kann, dass die Sporen in dem Nährmaterial auszukeimen vermögen, in dem sie vorher gebildet wurden, so steht uns eine objective Methode zur Verfügung, um den Zeitpunkt zu bestimmen, an dem die ersten fertigen Sporen aufgetreten waren, eine Methode, die zweifellos den Vorzug vor der mikroskopischen Beobachtung verdient.

Nach Koch und Cohn beginnt jedoch die Auskeimung der Sporen erst dann, wenn letztere in neue Bouillon übertragen werden.

Migula[1]) sagt hierüber: »Diese Eigenschaft der Sporen, nur auf frischen Nährböden zu keimen, ist eine ganz allgemeine und leichtverständliche, wenn man daran denkt, dass die Sporen sich ja eben erst bilden, wenn der Nährboden eine für die vegetative Vermehrung ungeeignete Beschaffenheit angenommen hat. Im allgemeinen wird aber ein neuer, weder erschöpfter noch von den Stoffwechselproducten derselben Art übersättigter Nährboden dazu gehören, um die Keimung der Bacteriensporen herbeizuführen.«

Für meine Bouillonversuche war es also nöthig, zu entscheiden, ob in den Nährböden, in welchen bis zur Sporenbildung immerhin eine Vermehrung der vegetativen Formen stattgefunden hat, also in relativ wenig veränderten Nährmedien, die Auskeimung erfolgt. Durch folgende Versuche glaube ich die Frage in entsprechender Weise gelöst zu haben.

Vier Kölbchen (K I—IV) mit je 50 ccm Löffler'scher Bouillon (K I—IV) wurden mit je zwei Oesen Milzsaft eines an typischem Milzbrand gefallenen Meerschweinchens geimpft und 4 Tage bei 37° gehalten. Nach der Herausnahme aus dem Brutschrank war in den Kölbchen starke Entwickelung eingetreten. Das mikroskopische Bild zeigte Sporen in reichlicher Menge, sowie kürzere und längere Ketten vegetativer Formen; den Inhalt von 3 Kölbchen liess ich vollständig durch ein Chamberland-Filter in sterile Culturgefässe filtriren, in Kölbchen 4 liess ich einige

---

1) a. a. O.

Cubikcentimeter der Milzbrandbouillon zur späteren Impfung zurück; letztere erhitzte ich behufs Abtödtung der vegetativen Formen in einem Reagenzglase 2 Minuten lang auf 80°.

K I wurde dann ungeimpft bei 37° gehalten; nach 10 Tagen war dessen Inhalt noch steril; ein Gelatinestich nach dieser Zeit mit dem Inhalt von K I angefertigt zeigte keinerlei Reaction; eine Maus, mit 1 ccm geimpft, bleibt am Leben.

K II, III und der Theil der Bouillon von K IV, der durch das Chamberland-Filter filtrirt war, mit je 2 Oesen der erhitzten Originalsporenbouillon versetzt, zeigten schon nach 24stündigem Verweilen bei 37° eine sehr starke Entwickelung bei makroskopischer Betrachtung, und mikroskopisch waren in allen Gesichtsfeldern lange Ketten vegetativer Formen aufzufinden. Es kann somit kein Zweifel mehr bestehen, dass frischgebildete Sporen in ihren Entstehungsflüssigkeiten vegetative Wuchsformen zu bilden vermögen. Erst in älteren Culturen keimen die Sporen nicht mehr aus; 4 Kölbchen, mit denen nach 18tägigem Verweilen bei 37° die gleichen Versuche angestellt wurden, blieben steril; eine Oese aus einem Kölbchen in frische Bouillon gebracht, gab darin reichliche Auskeimung, ebenso trat in einem Gelatinestich die charakteristische Tannenbaumform auf. Die Versuche stehen vollständig im Einklang mit den Koch- und Cohn'schen Ansichten, soweit es sich um ältere Culturen handelt; für jüngere Culturen bleibt jedoch zu Recht bestehen, dass die Sporen in der gleichen Bouillon, in der sie gewachsen sind, auszukeimen vermögen.

Nachdem so den Vorbedingungen und den sich ergebenden Einwänden genügt war, können wir zur Hauptaufgabe übergehen. Es ist zu erwarten, dass wenn die Bedingungen zur Sporenbildung überhaupt am günstigsten sind, auch am raschesten die Dauerformen auftreten. Nun sind aber, wie ich mich auf Grund der Literaturangaben überzeugen konnte und wie bereits erwähnt, die Autoren über das Optimum der Sporenbildung sehr getheilter Ansicht. Günther[1]) gibt an, dass nach seinen

1) Günther, Bacteriologie, 1895, S. 230.

Erfahrungen die Sporenbildung bei einer Temperatur von 28° am schnellsten vor sich gehe; nach Baumgarten, a. a. O., ist die hierzu geeignetste Temperatur 30° C., nach Migula 31° und nach Koch 35°. Nur Behring und Kruse[1]) geben übereinstimmend für das Optimum der Production von Anthraxsporen Temperaturen von etwa 37° C. an, bei welchem Wärmegrade ich auch meine Versuche begann.

Es ist selbstverständlich, dass ich bemüht war, Nährmaterial von derselben Beschaffenheit für sämmtliche Versuche, sowie Impfmaterial von constantem Verhalten in Anwendung zu bringen. Ersteres war leicht zu verschaffen, indem ich 10 l Bouillon nach der Löffler'schen Methode anfertigte und ihr denselben schwachen Alkalescenzgrad gab. Letzteres glaubten wir dadurch zu erreichen, dass wir kleine, sterile, aus »Jägerwolle« geschnittene Würfelchen von annähernd derselben Grösse gleichmässig mit dem Milz- und Lebersafte eines gerade an Milzbrand gefallenen Meerschweinchens in einer sterilen Petri-Schale durchtränkten; die so behandelten Wollläppchen wurden eine Stunde bei 37° gehalten und dann unter dem Recipienten der Luftpumpe völlig getrocknet. Es gelingt durch diese Antrocknungsmethode, sporenfreies Milzbrandmaterial sich herzustellen und ausserdem jedes Läppchen ungefähr mit derselben Anzahl Bacillen zu beschicken.

Sechs Bouillonröhrchen, in die je zwei dieser Läppchen gebracht worden waren, blieben nach 2 Minuten langer Erhitzung auf 80° im Thermostaten von 37° steril; ausserdem überzeugte ich mich durch Ueberimpfung dieser Milzbrandbouillon auf Mäuse, dass nur abgetödtete vegetative Formen und keine Sporen vorlagen. Um nachzuweisen, dass man auf die Jägerwoll-Würfelchen annähernd dieselbe Bacterienmenge bringen kann, versetzte ich sechs Röhrchen von je 5 ccm sterilisirtem Wasser mit je einem Läppchen, löste die Bacillen durch Drücken mit dem Platindrahte und Hin- und Herbewegen von der Wolle los und übertrug aus je einem Röhrchen zwei Oesen von 1,6 mg der Bacillen-

---

1) Flügge, Mikroorganismen, Bd. 2, S. 222, 1896.

aufschwemmung in geschmolzenes Agar. Auf den sechs damit angefertigten Platten waren nach 3tägigem Verweilen bei 37° kaum nennenswerthe Differenzen in der Anzahl der gewachsenen Colonien eingetreten.

Platte	I	enthielt	872	Colonien
»	II	»	790	»
»	III	»	836	»
»	IV	»	914	»
»	V	»	861	»
»	VI	»	840	»

So praktisch und zweckmässig das Arbeiten mit diesen an getrockneten Bacillen für meine Versuche auch gewesen wäre, indem ich damit Bouillonröhrchen zu einer beliebigen Zeit — ohne erst den Tod eines Thieres abwarten zu müssen — impfen und ausserdem alle Versuche bei hohen und niederen Temperaturen mit den gleichen Milzbrandbacterien anstellen konnte, so sollte ich mich doch bald im Laufe der Arbeit überzeugen, dass die angetrockneten Bacillen schon nach 3 Wochen abgeschwächt waren; die Sporenbildung trat nach dieser Zeit später ein als im Anfang oder unterblieb vollständig; ebenso war der Viurlenzgrad herabgesetzt. Nach 3½ monatlicher Antrocknung waren die Bacillen zwar noch am Leben; sie entwickelten sich in Bouillon bei Brutwärme aber erst nach 5 Tagen zu einer sichtbaren Cultur; Mäuse, welchen zwei derartige Läppchen unter die Haut gebracht wurden, starben nach 3 resp. 5 Tagen, während die frisch angetrockneten Bacillen die Mäuse regelmässig innerhalb 24 Stunden getödtet hatten.

Sechs Bouillonröhrchen, mit je zwei frisch angetrockneten Jägerwoll-Läppchen beschickt, verbrachte ich in den Thermostaten von 37°, sechs weitere in den von 24°. Nach den, in der nun folgenden Tabelle III angegebenen Zeiten wurden die Röhrchen dem Thermostaten entnommen und dann mit Hilfe der biologischen Erhitzungsmethode geprüft, ob und nach welcher Zeit in ihnen Sporen gebildet worden waren.

Tabelle III.

Zustand der angetrockneten Bacillen:	Temperatur	Verweilen im Brutschranke	Resultat	Controlgelatinestich
Frisch angetrocknet .	37°	5 Stunden	0	0
		10 »	0	0
		15 »	0	0
		20 »	+	+
		25 »	+	+
		30 »	+	+
Frisch angetrocknet .	24°	25 Stunden	0	0
		30 »	0	0
		35 »	0	0
		40 »	+	+
		45 »	+	+
10 Tage angetrocknet .	37°	16 Stunden	0	0
		18 »	+	+
		20 »	+	+
10 Tage angetrocknet .	24°	35 Stunden	0	0
		36 »	+	+
		37 »	+	+
		38 »	+	+
		39 »	+	+

Aus diesen wenigen Versuchen geht schon hervor, dass die Sporenbildung bei 37° in Bouillon früher erfolgt, als man nach der mikroskopischen Beobachtung bisher annahm, ferner, dass bei 24° nach 36 Stunden bereits Dauerformen entstanden sind. So oft ich diese Versuche mit frisch angetrockneten Läppchen auch wiederholte, bekam ich stets das gleiche Resultat, nämlich bei 37° waren nach längstens 18, bei 24° nach etwa 36 Stunden in allen Röhrchen Sporen gebildet worden. Die gleichen Ergebnisse hatte Prof. Forster vorher schon in einigen Vorversuchen erhalten.

Anders aber, falls ich die Versuche mit Bacillen anstellte, die beinahe 4 Wochen an Wolle angetrocknet waren. Diese zeigten folgendes Verhalten:

Tabelle IV.[1])

1. Bei 37° gehalten:			2. Bei 24° gehalten:		
Verweilen im Brutschranke	Resultat	Control-gelatinestich	Verweilen im Brutschranke	Resultat	Control-gelatinestich
16 Stunden	+	+	35 Stunden	0	0
17 »	0	0	36 »	0	0
18 »	+	+	37 »	+	+
19 »	+	+	38 »	0	0
20 »	0	0	39 »	0	0
			40 »	+	+

Die Wiederholung der Versuche ergab ebenso unregelmässige Resultate wie die erste Versuchsreihe.

Das Auftreten der Sporen nach einer gewissen Zeit, während in anderen Röhrchen trotz etwas längeren Verweilens in dem betreffenden Thermostaten keine Dauerformen gebildet wurden, ist vielleicht dadurch zu erklären, dass von den durch die Antrocknung geschwächten Bacillen nur noch die widerstandsfähigsten zu fructificiren im Stande waren.

Um nun stets gleichmässig behandeltes und möglichst ungeschädigtes vegetatives Milzbrandmaterial in Anwendung zu bringen, blieb mir nichts anderes übrig, als die Impfungen der Bouillonröhrchen jedesmal direct aus dem Thierkörper vorzunehmen. Ich impfte daher für die Versuche jedesmal vorher ein Meerschweinchen mit Milzbrandbacillen, und brachte nach dessen Tode einige Oesen Milz- und Lebersaft in Bouillonröhrchen, bewahrte dieselben bei Brutwärme und benutzte dieses Bacillen- und Sporengemisch zur Impfung des nächsten Thieres. Hierbei machte ich bald die wohl schon anderwärts bekannte Wahrnehmung, dass die Art des Impfens von Bedeutung für das Impfergebnis, aber auch für das Resultat meiner Versuche ist.

Ein Meerschweinchen, dem ich am 5. VII. 98 etwas viel, nämlich 1 ccm Sporenbouillon und noch dazu intraperitoneal

1) Um noch einmal darauf aufmerksam zu machen, in der Tabelle bedeutet: + Auskeimung der Sporen nach vorausgegangener, 2 Minuten langer Erhitzung auf 80°, wobei das vegetative Material abgetödtet wurde — also indirect Sporenbildung.

eingeimpft hatte, war nach Verlauf von 16 Stunden bereits todt. In der Milz, Leber und im peritonitischen Exsudate zeigten sich Milzbrandbacillen in grosser Menge. Ich beschickte Bouillonröhrchen mit je zwei Oesen Milzbrandblut, brachte sie in die Thermostaten von 37 und 24° und erhitzte dieselben nach relativ kurzem Verweilen bei den angegebenen Temperaturen in gewohnter Weise auf 80°. Zu meinem Erstaunen bekam ich folgende Resultate:

Tabelle V.

1. Bei 37° gehalten:			2. Bei 24° gehalten:		
Verweilen im Brutschranke	Resultat	Control-gelatinestich	Verweilen im Brutschranke	Resultat	Control-gelatinestich
3 Stunden	+	+	24 Stunden	+	+
6 »	+	+	27 »	+	+
9 »	+	+	30 »	+	+
12 »	+	+	33 »	+	+
15 »	+	+	36 »	+	+
18 »	+	+	39 »	+	+

Es kann kein Zweifel bestehen, dass in diesem Versuche das Thier gestorben war, bevor alle in dessen Körper eingeführten Sporen durch Auskeimung vegetative Formen gebildet hatten. Die dann aus dem Thierkörper in die Röhrchen übertragenen Sporen wurden durch die 2 Minuten lange Erhitzung auf 80° nicht geschädigt, keimten aus und täuschten ein positives Resultat vor. Um derartige Versuchsfehler auszuschliessen, verfuhr ich von jetzt ab auf Anrathen von Prof. Forster so, dass ich die Thiere nur mit zwei Oesen Milzbrandbouillon in eine in der Bauchgegend unter sterilen Cautelen hergestellte Hauttasche impfte; es trat dann thatsächlich der Tod der Meerschweinchen regelmässig nach etwa 36, der Mäuse nach etwa 24 Stunden ein. Wir können leicht aus Obigem ersehen, dass anscheinend geringfügige Aenderungen in den Versuchsbedingungen einen wesentlichen Einfluss auf die Resultate auszuüben vermögen.

Alle die Erfahrungen berücksichtigend, die ich im Laufe der Arbeit gemacht habe, stellte ich nun eine ganze Reihe Versuche an über den Eintritt der Sporenbildung bei 37, 35, 31, 24, 18 und 12° und zwar in Bouillon von constanter

Beschaffenheit. Es würde zu weit führen, alle Serien zu veröffentlichen; ich begnüge mich, diejenigen mitzutheilen, bei denen die Zeit für das Zustandekommen der Sporen sofort ersichtlich ist.

Tabelle VI.

Versuchsbeginn	Temperatur	Verweilen im Brutschranke	Resultat	Controlgelatinestich	Bemerkungen
29. VII.	37°	12 Stunden	0	0	
		14 »	0	0	
		16 »	+	+	
		18 »	+	+	
		20 »	+	+	
5. VIII.	37°	14 Stunden	0	0	
		15 »	+	+	
		16 »	+	+	
		17 »	+	+	
18. VIII.	37°	14 Stunden	0	0	Die Sporenbildung
		15 »	+	+	erfolgte bei 37°
		16 »	+	+	regelmässig nach
		17 »	+	+	15—16 Stunden.
29. VII.	35°	12 Stunden	0	0	
		14 »	+	+	
		16 »	+	+	
		18 »	+	+	
		20 »	+	+	
5. VIII.	35°	13 Stunden	0	0	
		14 »	0	0	
		15 »	0	0	
		16 »	+	+	
		17 »	+	+	
		18 »	+	+	
18. VIII.	35°	13 Stunden	0	0	Die Sporenbildung
		15 »	+	+	erfolgte bei 35°
		18 »	+	+	frühestens n. 14 St.,
29. VII.	31°	12 Stunden	0	0	spätestens n. 16 St.
		14 »	0	0	
		16 »	+	+	
		18 »	+	+	
		20 »	+	+	
5. VIII.	31°	12 Stunden	0	0	
		14 »	+	+	
		16 »	+	+	
		18 »	+	+	

Versuchsbeginn	Temperatur	Verweilen im Brutschranke	Resultat	Controlgelatinestich	Bemerkungen
18. VIII.	31 °	14 Stunden	0	0	Die Sporenbildung erfolgte bei 31 ° nach 15—16 Std.
		15 »	+	+	
		16 »	+	+	
		18 »	+	+	

Ich bemerke hiezu noch, dass ich bei keiner der vielen Versuchsreihen grössere Abweichungen in den Stundenzahlen erhalten habe, als die, welche in der Tabelle angegeben sind.

Aus der Tabelle VI ist zu ersehen, dass bei 37, 35 und 31° die Sporenbildung nahezu gleichzeitig und zwar nach etwa 16 Stunden erfolgt.

Für manche Fälle dürfte es nicht unwichtig sein, — ich erinnere z. B. nur an die vielfachen Sonnenversuche mit Milzbrandsporen — das Temperaturoptimum der Sporenbildung zu kennen.

Dass das Temperaturoptimum für das Wachsthum der Bacillen 37° C. ist, davon konnte ich mich im Laufe der Arbeit genügend überzeugen. In geimpfter Bouillon, die bei 37° gehalten wurde, stieg nach $4^1/_2$ Stunden ein makroskopisch deutlich sichtbarer Schleier vom Boden der Röhrchen auf, sobald ich dieselben etwas bewegte. Ein derartiger Schleier trat bei den Röhrchen, die im Thermostaten von 35° standen, nach 6 Stunden und bei 31° erst nach 10 Stunden auf. Die Frage, ob das Optimum der Sporenbildung bei 37, 35 oder 31° liegt, hätte ich nur dadurch lösen können, dass ich von 14 bis 16 Stunden Minutenversuche eingeschaltet hätte, was jedoch mehr Mühe verursacht haben würde, als der praktischen Bedeutung dieser Frage vorläufig entspricht. Ich beschränke mich auf die Mittheilung von Versuchen, in welchen ich der Frage nachgegangen bin, ob bei 37, 31, 24 oder 18° die resistenzfähigsten Sporen gebildet werden. Ich muss hier etwas vorgreifen und jetzt schon mittheilen, dass die Sporenbildung in Bouillon bei 24° nach etwa 36, bei 18° nach etwa 50 Stunden erfolgt.

Röhrchen von, mit frischem Milzbrandmaterial geimpfter Bouillon brachte ich in die Thermostaten, die auf 37, 31, 24

und 18° eingestellt waren. Die Röhrchen von 37 und 31° entnahm ich nach dreimal 16 Stunden den Thermostaten und vertheilte deren Inhalt in je fünf sterile Bouillonröhrchen. Ich suchte nun durch Erhitzung auf eine nicht zu hohe Temperatur festzustellen, welche von den, bei verschiedenen Temperaturen gebildeten Dauerformen am längsten eine bestimmte Temperaturhöhe auszuhalten und nach erfolgter Abkühlung bei 37° noch auszukeimen vermögen. Hierzu wählte ich 90° C., da bei 100°, wie ich mich überzeugen musste, die Grenzen für die, bei 37 und 31° gebildeten Dauerformen so nahe an einander fallen, dass es sich hierbei nicht entscheiden lässt, welche von den beiden die grösste Widerstandsfähigkeit besitzen.

Da ich entsprechende und keine willkürlichen Werthe mit einander vergleichen musste, überzeugte ich mich, in der schon häufig erwähnten Weise, dass in den Versuchsröhrchen

bei 37° nach 16 Stunden	bei 24° » 36 »
» 31° » 16 »	» 18° » 50 »

Sporen gebildet waren. Bei dem Proberöhrchen (37° C.), das nach 16 Stunden 2 Minuten auf 80° erhitzt war, konnte ich erst nach weiteren 2 mal 16 Stunden durch die Auskeimung und den Controlgelatinestich mit Sicherheit erkennen, dass Sporen gebildet waren. Da ich aber diese Röhrchen dreimal so lange im Thermostaten stehen liess, als eigentlich zur Sporenbildung nöthig gewesen wäre, so musste ich auch die andern Proberöhrchen dreimal 16, dreimal 36, resp. dreimal 50 Stunden in den betreffenden Thermostaten halten. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle VII zusammengestellt.

Tabelle VII.

Die Bacillen verweilten bei:	Wie lange?	Die Sporen wurden erhitzt auf:	Wie lange?	Erfolgte noch Auskeimung?	Controlgelatinestich
37°	3 × 16 Stunden	90°	3 Minuten	+	+
			6 »	+	+
			9 »	+	+
			12 »	+	+
			15 »	0	0

Die Bacillen verweilten bei:	Wie lange?	Die Sporen wurden erhitzt auf:	Wie lange?	Erfolgte noch Auskeimung?	Controlgelatinestich
31°	3 × 16 Stunden	90°	3 Minuten	+	+
			6 »	+	+
			9 »	+	+
			12 »	0	0
			15 »	0	0
24°	3 × 36 Stunden	90°	3 Minuten	+	+
			6 »	+	+
			9 »	+	+
			10 »	+	+
			12 »	0	0
			14 »	0	0
			15 »	0	0
18°	3 × 50 Stunden	90°	3 Minuten	+	+
			5 »	+	+
			6 »	+	+
			7 »	+	+
			9 »	0	0
			10 »	0	0
			12 »	0	0
			14 »	0	0

Aus dieser Tabelle geht deutlich hervor, dass die bei 37° gebildeten Sporen am resistenzfähigsten sind, da sie nach 12 Minuten langer Erhitzung auf 90° sich noch völlig normal entwickelten. Die bei 31 und 24° gebildeten Dauerformen erwiesen sich schon weniger widerstandsfähig, und die bei 18° entstandenen waren nach 9 Minuten bei einer Erhitzung auf 90° abgetödtet; wie wir aber früher schon sahen, werden bei 37° kaum rascher Sporen gebildet als bei 31°. Erwägen wir nun, dass man unter dem »Optimum« der Sporenbildung sowohl die grösste Widerstandsfähigkeit der Dauerformen als die kürzeste Zeit der Bildung zu verstehen hat, so lassen auch obige Resultate keine völlig scharfen Schlüsse über die, für die Sporenbildung günstigste Temperatur zu, und müssen wir uns mit der Constatirung der Thatsache begnügen, dass zwischen 31 und 37° am raschesten und die widerstandsfähigsten Sporen auftreten.

Auffallend ist, dass, während die ursprünglichen Sporen, die auf Kartoffeln bei 37° gebildet waren, nach 7 Minuten langer Einwirkung der Kochhitze noch auskeimten, die in Bouillon nach dreimal 15 Stunden entstandenen durch eine 12—15 Minuten lange Erwärmung auf 90° bereits abgetödtet waren. Ich stellte deshalb auch mit Sporen, die 10 Tage bei 37° verweilt hatten, Erhitzungsversuche an, welche folgende Resultate lieferten:

Tabelle VIII.

Nähr-material	Sporenbildung bei 37° innerhalb:	Erhitzung auf 90° während:	Keimten d. Sporen noch aus?	Control-gelatine-stich
Bouillon	10 Tagen	14 Minuten	+	+
		16 »	+	+
		20 »	+	+
		22 »	0	0
Kartoffel-scheiben	10 Tagen	14 Minuten	+	+
		16 »	+	+
		20 »	+	+
		22 »	0	0
Blutserum	10 Tagen	14 Minuten	+	+
		16 »	+	+
		20 »	0	0
		22 »	0	0

Die innerhalb 10 Tagen bei 37° gebildeten Sporen besitzen also eine grössere Widerstandsfähigkeit als jüngere, innerhalb 3 mal 16 Stunden entstandene Dauerformen. Die auf Blutserum entwickelten Sporen erwiesen sich weniger widerstandsfähig als solche, welchen Kartoffeln und Bouillon als Nährmedium dienten.

Wie ich schon oben angeführt habe, findet die Sporenbildung bei 24° nach etwa 36 Stunden, bei 18° nach etwa 50 Stunden statt. Ich lasse in der Tabelle IX einige diesbezügliche Versuche, die in der gleichen Anordnung wie früher ausgeführt worden sind, folgen.

Tabelle IX.

Versuchsbeginn	Temperatur	Verweilen im Brutschranke	Resultat	Controlgelatinestich
29. VII.	24°	28 Stunden	0	0
		32 »	0	0
		36 »	+	+
		40 »	+	+
11. VIII.	24°	32 Stunden	0	0
		34 »	0	0
		36 »	+	+
		38 »	+	+
29. VII.	18°	40 Stunden	0	0
		48 »	0	0
		52 »	+	+
		56 »	+	+
		60 »	+	+
18. VIII.	18°	48 Stunden	0	0
		50 »	+	+
		52 »	+	+
20. VIII.	18°	46 Stunden	0	0
		48 »	+	+
		50 »	+	+

Die durch mikroskopische Betrachtung gefundenen Resultate resp. die bisherigen Angaben über die zur Sporenbildung erforderlichen Zeiten weichen also gerade bei niederen Temperaturen sehr von der, durch die biologische Methode festgestellten Wirklichkeit ab. Umsomehr war zu erwarten, dass auf letzterem Wege angestellte Versuche über die Sporenbildung bei niederen Temperaturen zu neuen Thatsachen führen werden. Wie erwähnt, werden 15° C. als untere Temperaturgrenze für die Sporenbildung angeführt. Ich war nun bestrebt, festzustellen, ob bei 12° C., der Temperatur unseres Wasserleitungswassers, eine solche nicht mehr möglich ist. Zu diesem Zwecke wurden Reagir-Cylinder, die mit Milzbrandbacillen-haltender Bouillon beschickt waren, in dem laufenden Wasser der Wasserleitung bewahrt. Ein während der ganzen Versuchszeit im Wasser befindliches Maximum-

und Minimumthermometer zeigte als höchste Temperatur 13° C., als niedrigste 12° C. an. Einige der erhaltenen Resultate lasse ich in der Tabelle X folgen.

Tabelle X.

Versuchsbeginn	Temperatur	Verweilen im Brutschranke	Resultat	Controlgelatinestich
29. VII.	12—13°	60 Stunden	0	0
		72 »	0	0
		84 »	0	0
		96 »	0	0
		108 »	0	0
12. VIII.	12—13°	72 Stunden	+	+
		84 »	+	+
		96 »	0	0
		108 »	+	+
20. VIII.	12—13°	72 Stunden	0	0
		84 »	0	0
		96 »	0	0
		108 »	+	+
		120 »	0	0
		132 »	+	+

Es zeigt sich bei 12° ein ungleichmässiges Verhalten, das trotz der sorgfältigsten Behandlung immer wiederkehrte, und zwar nicht nur bei den Milzbrandbacillen, die in Bouillon Dauerformen gebildet hatten, sondern auch bei denen, die im Milzbrandblute selbst oder in Bouillon mit 2% Kochsalz gewachsen waren. Diese lückenhaften Resultate sind, wie man mit Recht annehmen darf, darauf zurückzuführen, dass 12° C. die niedrigste Temperatur sein dürfte, bei welchen Sporen gebildet werden, eine Temperaturgrenze, bei der nur die stärksten vegetativen Keime noch im Stande sind, Sporen zu erzeugen. Ich wurde in dieser Ansicht bestärkt, als ich sechs Röhrchen, die 6 × 24 Stunden im laufenden Wasser sich befanden, gleichzeitig nach der Erhitzung in den Thermostaten stellte. Obwohl alle Röhrchen mit

gleichen Mengen vegetativen Milzbrandmaterials beschickt waren und völlig gleich behandelt wurden, ergaben sie nachstehende Resultate:

R I blieb steril,
R II reichliche Entwickelung,
R III ebenso,
R IV blieb steril,
R V reichliche Entwickelung,
R VI blieb steril.

Gerade auf die bei 12° erhaltenen Resultate ist ein besonderer Werth zu legen, nicht bloss deshalb, weil man bis jetzt als das Temperaturminimum der Sporenbildung 15° C. annahm, sondern aus weiteren Gründen. Bekanntlich herrschen, worauf u. a. auch Kitasato a. a. O. in seinen Sporenversuchen aufmerksam macht, noch in einer Bodentiefe von ½ m von Mai bis October Temperaturen von 12 bis 16° C.; andererseits wies Schrakamp[1]) nach, dass in verschiedenen, allerdings vorher sterilisirten Bodensorten der Milzbrandbacillus seinen ganzen Entwickelungsprocess durchlaufen kann. Kommen nun Cadavertheile oder milzbrandhaltiges Blut in den Boden, so ist also bei uns während eines grossen Theiles des Jahres die Möglichkeit gegeben, dass die Bacillen in Sporen übergehen. Aber nicht nur eine Sporenbildung ist bei 12° noch möglich, sondern es erfolgt, wie ich hier einschalten möchte, bei dieser Temperatur und sogar noch bei durchschnittlich 7° C. ein Auskeimen der Anthraxsporen[2]) und eine geringe Vermehrung der Bacillen.

Es könnten daher die manchmal beobachteten Massenerkrankungen an Milzbrand, sogar in winterlichen Zeiten, nicht nur etwa durch wenige Sporen hervorgerufen werden, sondern durch die in grosser Anzahl vorhandenen vegetativen Formen,

---

1) Schrakamp, Zur Aethiologie des Milzbrands. Arch. f. Hyg., Bd. 2, S. 335.

2) Die Versuche über das Auskeimen der Sporen bei verschiedenen Temperaturen, welche ich im Auftrage von Prof. Forster ebenfalls übernommen habe, habe ich noch nicht völlig abgeschlossen; ich werde später Gelegenheit haben, die Resultate mitzutheilen.

die durch Auskeimung von wenigen Sporen und Vermehrung bei solcher niedriger Bodentemperatur entstanden sind.

Fasse ich die gefundenen Werthe über den Eintritt der Sporenbildung zusammen, so komme ich zu dem Schlusse, dass bei 18, 24, 31, 35 und 37° in Bouillon nach ganz bestimmten Zeiten Dauerformen auftreten, dass aber auch noch bei niedern Temperaturen — 12—13° — Sporen gebildet werden, in letzterem Falle aber unregelmässig und vermuthlich nur von den kräftigsten Individuen unter den anwesenden Bacillen.

Als nächste Frage war nun zu beantworten, ob die Bacillen unter andern Umständen, welche sie in ihrem natürlichen Leben sowohl, als auch in künstlichen Nährböden antreffen, zur gleichen Zeit Sporen bilden wie in Bouillon. So ist aus den Versuchen Buchner's bekannt, dass die Milzbrandbacillen, in destillirtes Wasser und in schwache Kochsalzlösungen gebracht, unter dem Einfluss dieser Verdünnungen rasch Sporen bilden; weiterhin hat Buchner dargethan, dass die Production von Anthraxsporen durch einen Zusatz von 2% Kochsalz begünstigt, und darüber hinaus verlangsamt wird. Ebenso glaubte auch Schreiber eine Beschleunigung der Sporenbildung unter dem Einflusse des destillirten Wassers und der verdünnten Kochsalzlösung zu beobachten.

Als Nährmedien verwendete ich solche von fester Consistenz und auch Nährlösungen der verschiedensten Zusammensetzungen; ich verfolgte das Auftreten der Dauerformen bei Temperaturen von 37, 24 und 18°. Die festen Nährmedien, die vorher auf die betreffenden Temperaturen erwärmt worden waren, wurden mit Milzsaft geimpft, und in die entsprechenden Thermostaten gebracht; nach den, in der folgenden Tabelle angegebenen Zeiten wurde von den bis dahin entwickelten Culturen Material in Bouillonröhrchen übertragen, und je zwei von diesen gleichzeitig in der beschriebenen Weise 2 Minuten auf 80° erhitzt, gekühlt und in den Brutapparat zur Auskeimung hingestellt. Im Voraus war anzunehmen, dass die Zeitunterschiede im Eintritte der Sporenbildung bei den verschiedenen Nährmedien keine erheblichen sein werden, weshalb ich bei den zahlreichen Ver-

suchen nur Zeiten berücksichtigte, die in der Nähe der durch die Bouillonversuche schon bekannten lagen.

Tabelle XI.

Nährboden	Temperatur des Thermostaten	Verweilen im Thermostaten	Sporenbildung in beiden Bouillonröhrchen	Verweilen im Thermostaten	Sporenbildung
1. Agar-Agar	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
2. Kartoffelscheiben	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
3. Blutserum	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
4. Kartoffelgelat.	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
5. Gelatine	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
6 Bierwürzgelat.	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	0 0
	24°	34 »	0 0	36 »	0 0
	18°	48 »	0 0	50 »	0 0

Wir sehen aus vorstehender Tabelle, dass in allen geeigneten festen Nährmedien die Sporenbildung zur selben Zeit erfolgt wie in Bouillon. Es ist klar, dass in der Bierwürz-Gelatine infolge der sauern Reaction die Bacillen sich nur kümmerlich entwickelten und keine Sporen bildeten. Die Versuche der Sporenbildung in flüssigen Nährmedien zeigten die Ergebnisse in Tabelle XII auf S. 385.

Wo also die Milzbrandbacillen Sporen erzeugen können, ist, wie aus beiden Tabellen hervorgeht, das erste Auftreten der Dauerformen nicht von der Art und Beschaffenheit des Nährmediums abhängig, sondern nur von der Temperaturhöhe.

Tabelle XII.

Nährlösung	Temperatur des Thermostaten	Verweilen im Thermostaten	Sporenbildung	Verweilen im Thermostaten	Sporenbildung
1. Kalbfleischbouillon ohne Pepton	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
2. Weizenschleim	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
3. Schleim aus 5% Quitten und 5% Eibischwurzel	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
4. Löffler'sche Bouillon mit 2% Kochsalz	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
5. Destillirtes Wasser u. 2% Kochsalz	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
6. Dest. Wasser	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +
7. Milzbrandblut selbst auf feuchten Läppchen	37°	14 Stunden	0 0	16 Stunden	+ +
	24°	34 »	0 0	36 »	+ +
	18°	48 »	0 0	50 »	+ +

Buchner's Angaben über die Begünstigung der Sporenbildung durch destillirtes Wasser und Nährmedien mit einem Gehalte von 2% Kochsalz kann ich insofern bestätigen, als bei der starken Verdünnung kein Wachsthum der vegetativen Formen erfolgte, sondern diese ohne Weiteres in Sporen übergingen; in solchen Flüssigkeiten waren nach etwa 16 Stunden zahlreiche Sporen entstanden, zu früheren Zeiten aber dem Thermostaten entnommene und hierauf erhitzte Röhrchen blieben steril, enthielten also noch keine Sporen. Der Befund Schreiber's, dass der Entwicklungsgang des Milzbrandbacillus in destillirtem

Wasser um 18, in der 2proc. Kochsalzlösung um 20 Stunden abgekürzt wird, stimmt wohl in Bezug auf die, von ihm auf anderen Nährböden gemachten Erfahrungen, entspricht aber nicht, da Schreiber ausschliesslich auf seine mikroskopischen Beobachtungen angewiesen war, den wirklichen Verhältnissen[1]).

Nachdem ich nun die Sporenbildung der Milzbrandbacillen bei niedern und gewöhnlichen Culturtemperaturen verfolgt habe, erübrigt mir noch, dieselbe bei höheren Temperaturen festzustellen. Bei 38—39° entstanden Dauerformen noch ziemlich regelmässig, und zwar nach etwa 18 Stunden; die Sporenbildung

1) Es ist allgemein bekannt, dass das mikroskopische Aussehen der Anthraxbacillen, je nach dem Nährboden, auf dem sie gewachsen sind, variirt; mir fielen deutlich sichtbare, dunklere Körnchen auf bei den Bacillen, die sich auf Eibisch-, Quitten- und Weizenschleim entwickelten. Diese Körnchen sind jedenfalls identisch mit den von Babes (Ueber isolirt färbbare Antheile von Bacterien. Zeitschr f. Hyg., Bd. 5, 1888, S. 173) und Ernst (Ueber Kern- und Sporenbildung in Bacterien. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 5, 1889, S. 428) beschriebenen Körperchen. Aber auch in dem makroskopischen Verhalten von Flüssigkeitsculturen treten Differenzen zu Tage, welche zu einer noch eingehenderen Untersuchung veranlassen, als ich sie bisher ausführte. Wie ich nämlich beobachtete, tritt in Nährflüssigkeiten mit der allmählichen Vermehrung der Bacillen eine gewissermaassen typische Trübung oder Schleierbildung auf; diese grauweiss erscheinenden Schleier sind, wenn bei niederer Temperatur gebildet, mehr körniger Natur, bei höherer Temperatur mehr netzartig verflochten; in den meisten Flüssigkeiten hielten die Fäden zusammen, während sie in Medien mit 2% NaCl fast wie Krystallnadeln anschiessen. Nur in destillirtem Wasser und einer 2proc. NaCl-Lösung gingen, wie begreiflich, die Wuchsformen in Dauerformen über, ohne dass weder mikroskopisch eine Verlängerung der Fäden, noch makroskopisch eine stärkere Schleierbildung hätte wahrgenommen werden können. Während die hier gebildeten Sporen selbst bei längerem Verweilen im Thermostaten anscheinend unverändert blieben, konnte ich dagegen die merkwürdige Beobachtung machen, dass solche Sporen, die auf Kartoffeln und in Bouillon bei 37° gebildet waren, nach Abtödtung der vegetativen Formen in destillirtes Wasser gebracht, hierin keimten, zu langen Fäden auswuchsen und sonach im destillirten Wasser einen immerhin noch deutlichen Schleier hervorriefen. Nicht unterlassen möchte ich ferner, mit einigen Worten auf das Wachsthum der Milzbrandbacillen bei 37° in verflüssigter Kartoffelgelatine einzugehen; von einer dicken, rahmartigen Schicht, die an der Oberfläche erscheint, gehen zahlreiche, nebenwurzelartige Fäden aus und verbreiten sich in ziemlich senkrechter Richtung bis auf den Grund der Röhrchen.

war also doch etwas gegenüber der bei 37° und darunter verringert; bei 42° waren von 10 Röhrchen in zweien nach 36 Stunden Sporen nachzuweisen, die übrigen 8 Röhrchen blieben nach 2 Minuten langer Erhitzung auf 80° steril

Eine weitere wichtige Frage ist, ob bei beliebigen andern Stämmen die Sporenbildung bei 37°, 24° und 18° zur selben Zeit wie bei dem bisher gebrauchten Stamm eintritt.

Aus milzbrandhaltigem Thiermaterial, das dem hygienischen Institute übersandt worden war, habe ich im Monat Juli 1898 einen Stamm, den ich der Kürze halber mit M II bezeichne, rein gezüchtet. Einen weiteren Milzbrandstamm, M III, züchtete ich aus den Organen eines an Milzbrand gefallenen Rindes. Beide Stämme rührten von Milzbrandfällen her, von denen der eine in Lothringen, der andere in Unterelsass vorgekommen war. Einen vierten Milzbrandstamm, M IV, wieder anderen Ursprungs, der von Cultur zu Cultur mehrere Jahre lang überimpft worden war, stand mir aus den Institutsvorräthen zur Verfügung.

Bouillonröhrchen, die mit M II und M III geimpft waren, ergaben trotz der Verschiedenheit der Stämme bei häufig wiederholten Versuchen ziemlich übereinstimmende Resultate, die in der folgenden Tabelle zusammengestellt sind. Die Virulenz der beiden Stämme kann als normal bezeichnet werden, indem Meerschweinchen vom gleichen Wurfe mit M II geimpft nach 36 Stunden, mit M III nach 38 Stunden eingingen. Siehe Tabelle XIII auf S. 388.

In den Bouillonröhrchen, die mit M II und M III geimpft waren, traten also bei den verschiedenen Temperaturen zur selben Zeit Dauerformen auf wie in den mit M I geimpften Röhrchen. Anders verhielt sich der Culturstamm M IV; er hatte an Virulenz eingebüsst, tödtete Mäuse nach 30—38, Meerschweinchen nach ungefähr 2 × 24 Stunden. Versuche über den Eintritt der Sporenbildung bei diesem Stamme ergaben die Resultalte in Tabelle XIV auf S. 388.

Tabelle XIII.

Temperatur des Thermostaten	Verweilen im Thermostaten	Mit welchem Stamme geimpft?	Sporenbildung	Mit welchem Stamme geimpft?	Sporenbildung
37°	13 Stunden	M II [1])	0	M III [1])	0
	14 »	»	0	»	0
	15 »	»	+	»	0
	16 »	»	+	»	+
	18 »	»	+	»	+
24°	34 Stunden	M II	0	M III	0
	35 »	»	+	»	+
	36 »	»	+	»	+
	38 »	»	+	»	+
18°	47 Stunden	M II	0	M III	0
	48 »	»	0	»	+
	49 »	»	+	»	+
	50 »	»	+	»	+
	52 »	»	+	»	+

Tabelle XIV.

Versuchsbeginn	Temp. des Thermostat.	Verweilen im Thermostaten	Sporenbildung	Controlgelatinestich
12. X.	37°	14 Std.	0	0
		16 »	0	0
		18 »	0	0
		20 »	+	+
		22 »	+	+
	24°	36 Std.	0	0
		38 »	0	0
		40 »	+	+
		42 »	+	+
	18°	50 Std.	0	0
		54 »	0	0
		58 »	0	0
		62 »	+	+
		66 »	+	+

Versuchsbeginn	Temp. des Thermostat.	Verweilen im Thermostaten	Sporenbildung	Controlgelatinestich
24. X.	37°	14 Std.	0	0
		16 »	0	0
		18 »	+	+
		20 »	+	+
		22 »	+	+
	24°	36 Std.	0	0
		38 »	+	+
		40 »	+	+
	18°	48 Std.	0	0
		50 »	0	0
		52 »	+	+
		54 »	+	+

1) Ich möchte nicht versäumen, zu bemerken, dass die Versuche mit M II im Monat Juli, mit M III Ende August ausgeführt wurden.

Die in der Tabelle angegebenen Unterschiede in der Zeit der Sporenbildung stehen offenbar in Zusammenhang mit einer gewissen Auffrischung der Milzbrandbacillen im Thierkörper. Am 12. X., nachdem der Culturstamm zum erstenmal den Thierkörper passirt hatte, trat bei 37, 24 und 18° die Sporenbildung verspätet ein im Vergleich mit den bisher gewonnenen Resultaten. Nach der dritten Thierpassage aber, am 24. X., erfolgte die Sporenbildung bei den verschiedenen Temperaturen fast in der normalen Zeit.

Wenn es auch unklug wäre, aus den Resultaten von vier Culturen verschiedenen Ursprungs allgemeine Sätze über das Verhalten aller möglichen sporogenen Milzbrandstämme aufzustellen, so glaube ich nunmehr doch soviel behaupten zu können, dass in ungeschädigten vegetativen Wuchsformen von normaler Virulenz und hoher Resistenz bei Temperaturen von 18—37° zu ganz bestimmten Zeiten Dauerformen auftreten, und zwar bedeutend früher, als man bisher auf Grund der mikroskopischen Untersuchungsmethode angenommen hatte.

Bei 37—31° erfolgt die Sporenbildung ziemlich gleichzeitig, und zwar nach etwa 16 Stunden. Die Abnahme der Temperatur macht sich dann rasch bemerkbar, indem bei 24° schon 36 Stunden, bei 18° 50 Stunden zum Zustandekommen der Dauerformen erforderlich sind. Lassen wir eine Temperatur von nur 12—13° einwirken, so sind für die Sporenbildung ungefähr 120 Stunden nöthig, bei Temperaturen über 38° ist die Production der Sporen wieder verlangsamt. Diese Zeitunterschiede habe ich in folgender Curve (s. S. 390) zu veranschaulichen gesucht.

Eine weitere Frage, welche mich beschäftigte, war das Verhalten der Milzbrandbacillen bei Temperaturen unter 12°.

Aus dem Vorhergehenden wissen wir, dass bei 12° noch Sporen gebildet werden, wenn auch unregelmässig. Es ist im voraus kaum zu erwarten, dass bei Temperaturen unter 12° eine Sporenbildung stattfindet, doch nicht, dass sie unmöglich ist. Dies kann nur durch Versuche entschieden werden, bei denen das Schicksal der vegetativen Formen unter dem Einfluss niederer Wärmegrade verfolgt wird. Die Hauptschwierigkeit bei diesen,

sich auf Wochen hinaus erstreckenden Versuchen bestand in der Auffindung von Räumen mit constanten niederen Temperaturen. Die erste Serie begann ich damit, dass ich mit Milzbrandblut geimpfte Bouillon in den Eisschrank einstellte; derselbe zeigte durchschnittlich 7° C., durch ein Minimum- und Maximum-Thermometer constatirte ich Schwankungen von 6—9°, welche Temperatur nach oben hin nie überschritten wurde. Alle 14 Tage



entnahm ich je zwei Röhrchen und unterzog dieselben einer eingehenden Untersuchung.

Das Verhalten der Bacillen nach den ersten 14 Tagen nun war Folgendes: Makroskopisch sahen beide Röhrchen wie steril aus; mikroskopisch waren in verschiedenen Gesichtsfeldern Ketten von 4—14 Gliedern aufzufinden.

Gelatinestich zeigte nach 3 mal 24 Stunden bei 26° das typische tannenbaumähnliche Wachsthum.

Eine Maus, mit einem Cubikcentimeter geimpft, fiel nach 40 Stunden an Milzbrand.

Der Rest des einen Röhrchens, 2 Minuten auf 80° erhitzt, blieb steril.

Der Rest des zweiten Röhrchens, ohne Erhitzung in Brutwärme gebracht, zeigte üppiges Wachsthum, lange Ketten vegetativer Formen und auch Sporen. Zur biologischen Identificirung der letzteren erhitzte ich die Cultur, die nun 10 Tage bei 37° verweilt hatte, in gewohnter Weise, um die vegetativen Formen abzutödten, impfte mit zwei Oesen dieser Bouillon eine Maus, welche nach 26 Stunden der Impfung mit Milzbrandsporen erlag. Es ist kaum nöthig zu erwähnen, dass ich mich durch mehrere Präparate aus der Milz und Leber der todten Maus überzeugte, dass dieselbe an Milzbrand zu Grunde gegangen war.

Die Bacillen hatten hienach bei 7° weder sich vermehrt, noch Sporen gebildet. Ihre geschwächte Virulenz kehrte unter dem günstigen Einfluss der Brutwärme wieder zum ursprünglichen Grade zurück.

Das Verhalten der Bacillen, die vier Wochen lang bei 7° verweilt hatten, ist ungefähr gleich. Nur die Virulenz war etwas mehr verringert, indem die mit 1 ccm geimpfte Maus erst nach 72 Stunden an typischem Milzbrand einging. Aehnlich sind die Verhältnisse nach sechswöchentlichem Verweilen im Eisschranke. Die Abnahme der Virulenz ist weiter gegangen; eine geimpfte Maus starb nach etwa 108 Stunden.

Nach zwei Monate langem Stehen im Eisschranke zeigen sich mikroskopisch kugelige Involutionsformen. Gelatinestich bleibt steril. Maus mit 1 ccm geimpft, bleibt am Leben. Originalröhrchen, nach 14 Tagen bei 37° zeigen starkes Wachsthum. Sporenbildung in den mikroskopischen Präparaten zweifelhaft, daher impfte ich mit zwei Oesen der auf 80° erhitzten Bouillon eine Maus, die nach 34 Stunden an Milzbrand einging, ein Beweis dafür, dass einzelne Dauerformen vorhanden waren, nicht genug jedoch, um eine Maus zu tödten.

Nach $2\frac{1}{2}$ Monaten beobachtete ich: makroskopisch keinerlei Entwicklung, mikroskopisch Involutionsformen. Gelatinestich steril. Maus bleibt am Leben. Originalröhrchen 14 Tage bei 37°

sehen völlig steril aus. Maus hiermit geimpft zeigt keinerlei Krankheitserscheinungen. Die Bacillen waren also nach $2\frac{1}{2}$-monatlichem Verweilen bei durchschnittlich 7° abgestorben[1]).

Weiterhin war ich in der Lage, längere Zeit hindurch die Milzbrandbacillen bei 3° zu halten. Für solche Versuche war nämlich Herrn Professor Forster im Eiskeller einer hiesigen Brauerei mit grosser Bereitwilligkeit ein Raum zur Verfügung gestellt worden, in dem eine fast constante Temperatur von 3° C. während des ganzen Sommers unterhalten wurde; das von uns aufgestellte Maximumthermometer zeigte in dieser Zeit + 3°, das Minimumthermometer $2\frac{3}{4}$° an. In diesen Raum verbrachte ich eine verschliessbare Kiste, die mit Sand gefüllt war, damit die einzuführenden Röhrchen durch eventuelle Lufttemperaturschwankungen nicht beeinträchtigt würden. Als das im Sande befindliche Thermometer die Temperatur von 3° angenommen hatte, verbrachte ich in denselben die mit frischem Milzbrandmaterial geimpften Bouillonröhrchen, die zum Schutze in weitere Glasröhren eingestellt waren.

I. Entnahme von zwei Röhrchen nach zwölf Tagen. Mikroskopisch zeigten sich neben Ketten vegetativer Formen blass gefärbte kugelförmige Degenerationsformen. Je 1 ccm aus den beiden Röhrchen in Bouillon übertragen und zwei Minuten

---

1) In den mikroskopischen Präparaten, die ich aus den längere Zeit bei 7° gestandenen Culturen angefertigt hatte, fanden sich auch sehr lange Ketten oder Fäden von Milzbrandbacillen. Man könnte denken, dass diese Verbandformen auf ein Wachsthum der aus dem Thierkörper in die Bouillon übergebrachten Milzbrandbacillen bei 7° zurückzuführen wären. Dies ist aber nach den obigen Befunden nicht angänglich. Wohl heisst es in unseren gebräuchlichsten Lehrbüchern, dass der Milzbrandbacillus sich im Blute milzbrandiger Thiere in kleineren Verbänden von 2, 3, 6 Gliedern findet, während als höchste Zahl 10 Stäbchen angegeben werden. Ich konnte aber öfters in der Milz und Leber frisch an Milzbrand verendeter Mäuse und Meerschweinchen Ketten von 12 bis 15 Gliedern beobachten. Herr Conradi, dessen im hiesigen Institute ausgeführte Arbeit »Ueber Milzbrandtoxine« in Bälde erscheinen wird, zeigte mir Präparate aus der Milz und Leber von Kaninchen, deren Fäden bis 18 Stäbchen aufwiesen. Die langen Fäden, die ich in den mikroskopischen Präparaten der bei 7° gestandenen Culturen stets sah, sind offenbar schon in den Organen des Versuchsthieres anwesend gewesen und bei der Impfung in die Bouillon mit übertragen worden.

auf 80° erhitzt, ergab nach mehrtägigem Verweilen bei Brutwärme keine Entwicklung, sowie auch eine hiemit geimpfte Maus völlig gesund blieb; es waren also bei 3° keine Sporen gebildet worden. — Eine Maus, mit 1 ccm der nicht erhitzten Originalbouillon geimpft, starb nach 112 Stunden. Ferner besassen die Bacillen noch die Fähigkeit, in neuen Nährmedien sich zu entwickeln und auch in den Originalröhrchen, wenn diese bei 37° gehalten wurden, Sporen zu bilden.

II. Entnahme nach 18 Tagen. Eine Maus, mit 1 ccm geimpft, bleibt am Leben; Gelatinestich steril.

Originalröhrchen jedoch bilden bei 37° Dauerformen, die nach Abtödtung der Bacillen auskeimen und eine Maus innerhalb 40 Stunden tödten.

III. Entnahme nach einem Monat. Maus bleibt am Leben; Gelatine steril. Die Bacillen erholen sich aber immer wieder nach mehrtägigem Verweilen bei 37°, bilden Sporen und sind infectiöser Natur.

IV. Entnahme nach zwei Monaten. Ich untersuchte drei Röhrchen, die mikroskopisch das oben schon beschriebene Bild zeigten. Von den drei Originalröhrchen, die nunmehr in den Thermostaten von 37° gebracht wurden, waren zwei nach zehntägigem Verweilen daselbst noch steril; hiermit geimpfte Mäuse zeigten keinerlei Reaction. In dem dritten Röhrchen war reichliche Entwicklung von Bacillen eingetreten, welche dabei Sporen gebildet hatten: diese tödteten nach zwei Minuten langer Erhitzung auf 80° eine Maus, der 1 ccm dieser Sporenbouillon injicirt wurde, nach 23 Stunden.

Um ganz sicher zu sein, dass in den beiden Röhrchen, in denen kein Wachsthum eingetreten war, sich wirklich nur todte Bacillen befanden und keine, welche in ihrer Entwicklung bloss gehemmt waren, goss ich den Rest der beiden Culturen in ein Kölbchen von 30 ccm frischer Bouillon, aber auch diese blieb, bei 37° gehalten, steril.

Nach 72 Tagen wurden abermals drei Röhrchen in gewohnter Weise untersucht; das Ergebnis war, dass alle Bacillen in der

That abgestorben waren. Eine Sporenbildung hatte also bei dieser niedrigen Temperatur auch nach langer Zeit nicht stattgefunden.

Eine weitere Versuchsreihe, in welcher die Milzbrandbacillen bei 10° gehalten wurden, hatte ich gleichzeitig mit denen bei 3° im Hinblicke auf die Untersuchungen Professor Forster's[1]) unternommen, nach denen es eine Reihe von Bacterien gibt, die bei der Temperatur des schmelzenden Eises noch ihre Lebensfunctionen auszuüben vermögen.

Jetzt, nachdem wir das Verhalten der Anthraxbacillen bei 3° kennen gelernt haben, ist allerdings anzunehmen, dass diese auch bei 0° keine Sporen bilden, nach einer gewissen Zeit an ihrer Lebensfähigkeit einbüssen und allmählich zu Grunde gehen, falls man sie nicht rechtzeitig dem günstigen Einfluss höherer Temperaturen unterwirft.

Die constante Temperatur von 0° in einem grossen, mit Eisstückchen gefüllten Gefässe stellte ich mir dadurch her, dass ich während des Tages das Eis öfters erneuerte, und über Nacht grosse Mengen davon in Anwendung brachte. Durch ein Maximum- und Minimumthermometer überzeugte ich mich, dass während der ganzen Versuchsdauer keine Temperaturschwankungen eingetreten waren. Eine Anzahl von Röhrchen mit geimpfter Bouillon, die mit Gummikappen verschlossen waren, verbrachte ich in den Eisapparat; nach 10 Tagen untersuchte ich die ersten 2 Röhrchen.

Mikroskopisch ergaben sie das bekannte Bild normal aussehender Stäbchen, sowie klumpige Formen. Eine Maus, mit 1 ccm nach Erwärmung auf 80° geimpft, blieb am Leben, ein Beweis dafür, dass keine Dauerformen entstanden waren, dagegen erfolgte im Thermostaten von 37° in den Originalculturen starke Vermehrung und Sporenbildung; diese Dauerformen tödteten Mäuse innerhalb 24 Stunden.

Ein ganz ähnliches Verhalten zeigten in obiger Weise behandelte Culturen, welche nach 16 und 20 Tagen untersucht

1) Forster, Ueber die Entwickelung von Bacterien bei niederen Temperaturen. Centralbl. f. Bact., Bd. 12, S. 431; 1892.

wurden. Nach etwas mehr als 3 Wochen, nach 23 und 24 Tagen, erwiesen sich dagegen die Bacillen als abgestorben; denn die Originalröhrchen blieben nun, selbst nach 14 tägigem Verweilen bei 37° steril, und Impfungen auf Mäuse in Bouillon und Gelatine blieben erfolglos.

In der Einwirkung niederer Temperaturen auf die Anthraxbacillen lassen sich mithin drei periodisch wiederkehrende Stadien erkennen.

I. Stadium: Die Bacillen verlieren an ihrer ursprünglichen Virulenz; es tritt ein Zeitpunkt ein, in dem grosse Mengen Bacillenaufschwemmung Mäuse noch zu tödten vermögen. Dieses Stadium ist erreicht

bei 6—8° zwischen 1½ und 2 Monaten
» 3° » 12 » 18 Tagen
» 0° vor 10 Tagen.

Im II. Stadium sind die Anthraxbacillen, falls sie noch rechtzeitig höheren Temperaturen (37° C.) ausgesetzt werden, im Stande, sich zu erholen und nach wenigen Tagen Sporen und neue vegetative Formen von fast normaler Virulenz hervorzubringen. In dieser Weise verhielten sich Culturen, die

60 Tage lang 6—8°
55 » » 3° und
20 » » 0° ausgesetzt waren.

Das III. Stadium, ein völliges Absterben der Bacillen, erfolgte

bei 6—8° nach 2½ Monaten
» 3° » circa 65 Tagen
» 0° » » 24 »

Ob diese Zahlen sich auch für andere Milzbrandstämme richtig erweisen, müssen weitere Versuche darthun.

Als nicht unwichtig erscheint mir, darauf aufmerksam zu machen, dass die schon sehr geschwächten Bacillen, noch rechtzeitig der Kälteeinwirkung entzogen und in Bruttemperatur gebracht, oft schon nach 2 × 24 Stunden Nachkommen von fast

normaler Virulenz gebildet haben, während mehrere andere Culturröhrchen, am folgenden Tage dem Kältegemisch entnommen, nur mehr todte Bacillen enthalten. Daraus scheint hervorzugehen, dass durch Kälte die einzelnen Individuen in ungleichem Grade benachtheiligt werden, dass aber geschädigte Anthraxbacterien, solange sie noch etwas lebensfähig sind, unter dem günstigen Einfluss der Wärme rasch ihren früheren ursprünglichen Virulenzgrad wieder annehmen.

Zum Schlusse habe ich über Versuche zu berichten, in welchen ich dem Einfluss von Temperaturen unter 0° auf das Verhalten der Milzbrandbacillen nachgegangen bin.

Bei Experimenten über die Einwirkung sehr niedriger Temperaturen (— 130° C.) auf das Leben der Milzbrandbacillen fanden Pictet und Joung[1]), dass bei dieser Temperatur die vegetativen Wuchsformen des Bacillus Anthracis in wenigen Stunden abgetödtet werden. Weitere Untersuchungen hierüber verdanken wir dem russischen Thierarzt Klepzopf[2]); derselbe stellte Blut und Theile verschiedener parenchymatöser Organe Temperaturen aus, die zwischen — 19 und — 28,7° schwankten. Nach 3½tägiger Kälteeinwirkung fertigte er Agarplatten an, die typische Culturen ergaben. Thiere mit so behandelten Bacillen geimpft, erlagen der Injection in der normalen Zeit. Eine zwölftägige derartige Kälte war nach seinen Erfahrungen genügend, um die Anthraxbacillen zu tödten.

Die Angaben Klepzopf's, dass Culturen nach 24 tägiger Einwirkung einer Temperatur von durchschnittlich — 19° C. ein Meerschweinchen in der fast normalen Zeit von 40 Stunden tödteten, stehen im Widerspruch mit den von mir gemachten Erfahrungen bei Temperaturen von 3° und 0°. Wie ich oben schon erwähnte, erweisen sich Anthraxculturen, die 20 Tage ununterbrochen bei 0° stehen, überhaupt nicht mehr pathogen;

---

1) Pictet et Joung, De l'action du froid sur les microbes (Compt. r. de l'Ac. d. sc. 1884, No. 12).

2) Klepzopf, Zur Frage über den Einfluss niederer Temperaturen auf die vegetativen Formen des Bacillus Anthracis. Centralbl. f. Bact., Bd. 17, S. 293; 1895.

ich bin nicht im Stande, eine Erklärung für diesen Unterschied in den Beobachtungen zu geben; vielleicht handelt es sich um einen Stammesunterschied.

Um nun die Einwirkung einer, mittelst Kältegemisch erzeugten möglichst constanten niederen Temperatur auf das Leben der Milzbrandbacillen zu studiren, beschickte ich ein grosses Blechgefäss, das zum Abfliessen des geschmolzenen Eises durchlöchert war, mit einem innigen Gemisch von zerstückeltem Eise und Kochsalz. Während des Tages herrschte darin, wie das Thermometer anzeigte, eine constante Temperatur von — 18°; während der Nacht, in der zwar grosse Mengen des Eis- und Salzgemisches angewandt, aber nicht erneuert wurden, traten Schwankungen von 3° ein, so dass das Thermometer des Morgens gewöhnlich — 15 oder — 16° anzeigte. In diese Mischung verbrachte ich mit Gummikappen verschlossene Röhrchen mit frischem Milzbrandmaterial und mit Bouillon, die in gewohnter Weise mit 2 Oesen von jenem geimpft waren. Von Zeit zu Zeit entnahm ich ein Röhrchen, liess dessen Inhalt bei Zimmertemperatur aufthauen, impfte alsdann mit 1 ccm eine Maus und fertigte eine Gelatinestichcultur an. Das Originalröhrchen liess ich nun gewöhnlich 3 mal 24 Stunden im Thermostaten von 37° stehen, erhitzte dasselbe dann zwei Minuten auf 80° und impfte zum Nachweis, ob nunmehr auch Sporen gebildet waren, sowie der Virulenz der letzteren, Mäuse mit zwei Oesen der Cultur. Ich kam dabei zu folgenden Resultaten. (Siehe Tabelle XV auf S. 398.)

Die Bacillen, die 9 mal 24 Stunden der Kälte ausgesetzt waren, und die folgenden liess ich entsprechend lange im Thermostaten stehen, da nach 5 Tagen in den Originalröhrchen noch keine Entwicklung eingetreten war, und auch Mäuse auf eine Impfung mit der unerhitzten Bouillon keinerlei Reaction zeigten. Eine deutliche Entwicklung erfolgte in den oben erwähnten Röhrchen nach 10—15 tägigem Verweilen bei 37°; es wurden hiebei Sporen gebildet, die trotz der Schädigung und Entwicklungshemmung der vorausgegangenen Vegetation eine normale Virulenz besassen.

Tabelle XV.
Temperatur 18—15° unter Null.

Einwirkung derselben	Resultat des Gelatine-stichs	Maus mit 1 ccm geimpft, starb nach	Sporen-bildung im Original-röhrch. b. 37°	Mäuse mit 2 Oesen erhitzt. sporenhalt. Bouillon geimpft
2 Stunden	+	† 39 Stunden	+	Starben alle innerhalb 30 Stunden
16 »	+	† 42 »	+	
24 »	+	† 96 »	+	
2 Tage	+	† 83 »	+	
3 »	+	† 104 »	+	
4 »	+	† 84 »	+	
5 »	0	bleibt am Leben	+	
6 »	0	»	+	
9 »	0	»	+	
13 »	0	»	+	
18 »	0	»	0	Bleibt am Leben.
20 »	0	»	0	

Auch bei diesen Versuchen lassen sich mit grosser Deutlichkeit die drei Stadien unterscheiden, in welche die Milzbrandbacillen unter dem Einflusse der Kälte versetzt werden. Das I. Stadium ist nach 5 Tagen eingetreten. Die ursprüngliche normale Virulenz der Bacillen ist auf einen derartig niederen Grad herabgesetzt, dass zwei Mäuse, von denen der einen 3 ccm dieser Bouillon, der andern selbst 2 ccm Milzbrandblut ohne Verlust eingespritzt wurden, am Leben blieben.

Das II. Stadium liegt zwischen 5 und 14 Tagen. Hier wirkte eine Temperatur von 37° C. noch günstig auf die vorher in der Kältemischung gehaltenen Bacillen ein, so dass sie nach längerer Zeit, proportional der Dauer der vorausgegangenen Kältewirkung ihren anfänglichen Infectiositätsgrad wieder erreichen.

Das III. Stadium, der Tod, trat bei den so behandelten Bacillen nach ungefähr 18 Tagen ein.

Im Laufe vorstehender Untersuchungen glauben wir nun die beiden physiologischen Bedingungen,

die Einwirkung von niederen und höheren Temperaturen, sowie den Einfluss der verschiedenen Nährmedien auf

das Wachsthum und die Sporenbildung der Milzbrandbacillen,

genügend gewürdigt zu haben. Die weiteren Versuche erstrecken sich auf die dritte physiologische Bedingung der Sporenbildung, nämlich die ungehinderte Zufuhr von Sauerstoff.

Ist in geeigneten Nährmedien bei Ausschluss des atmosphärischen Sauerstoffs eine Sporenbildung der Anthraxbacillen möglich?

Den Milzbrandbacillus rechnet man zu den facultativen Anaërobionten, alle seine Lebensäusserungen gehen am kräftigsten bei Anwesenheit von Sauerstoff von statten. Gegen Sauerstoffmangel sind nach Liborius[1]) die Anthraxbacillen nicht so empfindlich, dass sie ihre Lebensäusserungen etwa einstellen, sondern sie pflegen je nach der Vollständigkeit der Sauerstoffentziehung immerhin noch eine nicht unbedeutende Menge von Nährmaterial zu verbrauchen und eine beträchtliche Vermehrung zu zeigen.

Für die Bildung der Sporen jedoch bedürfen die Milzbrandbacillen, gemäss den zahlreichen Literaturangaben, einer reichlichen Zufuhr von Sauerstoff. Buchner allein sagte darüber, dass der Sauerstoff nur das Wachsthum der Bacillen, aber nicht direct die Sporenbildung beeinflusse.

Ich versuchte nun experimentell der Frage näher zu treten, indem ich pflanzliches und thierisches Nährmaterial, mit frischen Milzbrandbacillen geimpft, nach Entfernung der in den betreffenden Gefässen befindlichen Luft einer günstigen Temperatur aussetzte. In der Auswahl der Nährmedien berücksichtigte ich eine Erfahrung Migula's; dieser Forscher macht darauf aufmerksam, dass die Sporenbildung bei manchen Bacterien auf einem passenden Nährboden eintreten kann, während eine solche auf den gewöhnlich gebräuchlichen Nährmedien nicht erfolgt; so fand er bei einer Untersuchung über die Sporenbildung des Bacteriums der blauen Milch, dass auf zähem Althaeaschleim

1) Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bacterien. Zeitschr. f. Hyg., Bd. 1, S. 172; 1886.

sehr schöne Sporen entstanden, während solche weder auf Nähr-Agar noch in Nähr-Gelatine erhalten werden konnten; ebenso schreibt Migula dem Quittenschleim eine die Sporenbildung fördernde Wirkung zu. Ich brachte daher ausser den gewöhnlichen bacteriologischen Nährmedien eine wässerige Maceration von je 5% Quittenfrüchten und Eibischwurzel in Anwendung.

Als anaërobes Züchtungsverfahren wählte ich das der Entfernung der Luft durch lange dauerndes Einleiten von Wasserstoff; die hierzu benutzten Apparate waren:

1. Reagensgläser nach der Roux-Heim'schen[1]) Methode hergerichtet.
2. Petri'sche Schalen, die offen im sterilen Botkin'schen Apparate gehalten wurden.

Bei der Ausführung der Versuche nach der ersten Methode verfuhr ich folgendermaassen: Reagensgläser wurden mit dem betreffenden Nährmaterial sterilisirt, rasch zum Erkalten gebracht und alsdann mit dem Milz- und Lebersaft eines an Milzbrand gefallenen Meerschweinchens geimpft. Die Reagiercylinder verengerte ich dann etwas unter ihrer Mündung durch Erhitzen im Gebläse. In die so hergericheten Cylinder leitete ich Wasserstoff, der von Spuren von Schwefelwasserstoff, Arsenwasserstoff und Sauerstoff durch Anwendung von drei Waschflaschen mit Lösungen von Bleinitrat (10%), Silbernitrat (10%), Pyrogallol und Alkali gereinigt war. Durch einen Gummischlauch verband ich die letzte Waschflasche mit einer zur Capillare ausgezogenen sterilisirten Glasröhre, deren dickeren Theil ich vorsichtshalber noch mit zwei Wattebäuschchen verschlossen hatte. Von solchen sterilisirten Capillaren fertigte ich mir einen grossen Vorrath an, da für jedes Culturröhrchen eine nöthig war. Das Sterilisiren der äusseren Wand der Capillaren besorgte ich immer erst dann, wenn der Wasserstoffapparat schon einige Zeit in Thätigkeit gesetzt, also alle Luft aus dem-

1) Heim, Lehrbuch der bacteriologischen Untersuchung und Diagnostik, S. 140; 1894.

selben verdrängt und ein reiner Wasserstoffstrom vorhanden war; sodann brachte ich die Capillare auf den Grund der, in obenbeschriebener Weise präparirten Röhrchen und leitete durch letztere mindestens eine Viertelstunde lang einen kräftigen Wasserstoffstrom. Hierauf schmolz ich das Glasröhrchen an der verengerten Stelle sammt Capillare möglichst rasch ab; dabei entzündete sich der Wasserstoff und verbrannte ruhig ohne jegliches Geräusch. Die zugeschmolzenen Cylinder, in denen sich also der untere Theil der Capillare befand, wurden ausserdem noch mit Paraffin überzogen und in den Thermostaten von 37° gestellt. Nach 14 Tagen entnahm ich die Röhrchen, öffnete dieselben unter sterilen Cautelen und unterwarf deren Inhalt einer genauen Prüfung.

I. Gelatineröhrchen.

Zwei solche waren noch in flüssigem Zustande geimpft und während der Wasserstoffeinleitung durch Wasser von ca. 32° flüssig gehalten worden. Dieselben zeigten nach 14 Tagen folgendes Verhalten:

Makroskopisch war in beiden Röhrchen keine Entwicklung wahrzunehmen.

Mikroskopisch waren in einigen Präparaten überhaupt keine Authraxbacillen, in andern fast ausschliesslich Involutionsformen aufzufinden.

Die Originalröhrchen, sowie damit geimpfte frische Gelatineröhrchen blieben nach 10tägigem Verweilen im Thermostaten von 26° steril, ebenso hiermit geimpfte Bouillon, die die gleiche Zeit im Brutschranke von 37° gestanden war.

Die Bacillen waren mithin in der Gelatine unter anaëroben Bedingungen abgestorben.

II. Bouillonröhrchen.

Makroskopisch: Starke Entwicklung.

Mikroskopisch: Fäden normal aussehender und klumpiger Milzbrandformen.

Originalröhrchen a, 2 Minuten auf 80° erhitzt, blieb steril, ebenso ein frisches, hiermit geimpftes Bouillonröhrchen.

Originalröhrchen b, nach dem Oeffnen direct wieder in den Brutschrank bei 37° gestellt, bildete reichlich Sporen, was ich auf biologischem Wege nachwies.

Bei Luftabschluss waren also auch in Bouillon keine Sporen gebildet worden, dagegen waren die Bacillen im Stande, nach dem Oeffnen des Röhrchens innerhalb kurzer Zeit Dauerformen zu bilden.

III. Agar-Agar.

In den beiden Agar-Röhrchen hatte ich dadurch anaërobe Bedingungen hergestellt, dass ich das frisch sterilisirte Agar unter Kühlung möglichst rasch schief erstarren liess, nach der Impfung ½ Stunde Wasserstoff durch die Röhrchen leitete, um die Luft möglichst auszuspülen, und dann die Röhrchen in der Flamme schloss.

Makroskopisch zeigten sich kleine, weisse Colonien.

Mikroskopisch: Zahlreiche kurze Ketten vegetativer Formen; Sporen zweifelhaft; ich impfte daher sofort etwas von den weissen Colonien in Bouillon, erhitzte letztere 2 Minuten lang auf 80° und stellte die Röhrchen nach der Abkühlung in den Thermostaten; die Bouillon war nach 10 Tagen noch steril. Mithin waren anaërob auf Agar auch keine Sporen gebildet worden.

Vom zweiten Röhrchen impfte ich sofort nach dem Oeffnen auf frisches Agar und in Bouillon. Auf beiden wuchsen bei Luftzutritt im Thermostaten lange, normal aussehende Fäden vegetativer Formen, die sich im mikroskopischen Bilde durch zwei Gesichtsfelder erstreckten. Ein derartiges Bouillonröhrchen, 2 Minuten auf 80° erhitzt, zeigte am nächsten Morgen eine reichliche Auskeimung der Sporen in Anthraxbacillen von gewöhnlichem Aussehen.

IV. Kartoffel-Cylinder.

Sie waren frisch sterilisirt und in der vorher beschriebenen Weise behandelt worden.

Makroskopisch: Ein weisser, deutlich sichtbarer Belag.

Mikroskopisch: Ziemlich lange Ketten normal aussehender und verkümmerter Formen; zum Nachweis der Sporen impfte ich in Bouillon ab, tödtete die Bacillen durch Erhitzung auf 80°; nach 2 × 24 Stunden zeigte sich in diesen Röhrchen nach dem Entnehmen aus dem Thermostaten reichliche Auskeimung.

Von der zweiten Kartoffelcultur wurde nach dem Oeffnen eine Oese des weissen Belags in Bouillon verrieben, letztere 2 Minuten auf 80° erhitzt und 1 ccm hiervon einer Maus injicirt, die an typischem Milzbrand zu Grunde ging.

Auf Kartoffeln waren also anaërob Sporen gebildet worden.

V. Sterile Cydonia- und Althaea-Maceration.

Auch diese war nach dem Erkalten sofort geimpft und wie die andern Nährböden behandelt worden.

Makroskopisch: Starke Entwicklung.

Mikroskopisch: Lange Fäden vegetativer Formen, die, mit Gentianaviolett gefärbt, mehrmals durch die Flamme gezogen und in Wasser betrachtet, Kapsel zeigten von derselben Schönheit und Deutlichkeit wie die im Thierkörper gebildeten.

Zum Nachweis der Sporenbildung erhitzte ich sofort das zweite Originalröhrchen auf 80° und impfte:

1. eine Maus mit 1 ccm. Dieselbe starb nach 31 Stunden an typischem Milzbrand.
2. Agar-, Gelatine- und Bouillonröhrchen, in denen starke Entwicklung eintrat.
3. Den Rest des Originalröhrchens verbrachte ich in den Thermostaten von 37°; dabei zeigte sich, dass die anaërob gebildeten Sporen in der Flüssigkeit, in welcher sie gebildet wurden, aërob auszukeimen vermögen.

Aus obigem Versuche geht hervor, dass in Eibisch- und Quittenschleim bei Luftabschluss Sporen von beinahe normaler Virulenz entstanden waren.

Von den fünf in Anwendung gebrachten Nährböden waren unter anaërobiontischen Bedingungen auf Kartoffeln und in dem Eibisch- und Quittenschleim Sporen gebildet worden. Trotzdem ich keinen Augenblick an der Richtigkeit der erhaltenen Resultate zweifelte, hielt ich es für nöthig, um Täuschungen irgend welcher Art zu vermeiden, und da ich in der Literatur über das anaërobe Zustandekommen der Milzbrandsporen nichts finden konnte, mit den Nährmedien, auf denen nach der ersten Methode Dauerformen entstanden waren, die Versuche nach einem anderen Züchtungs-Verfahren, und zwar im Botkin'schen Apparate, zu wiederholen. Letzterer war durch Reinigen mit Sublimatlösung und Nachspülen mit sterilem Wasser keimfrei gemacht worden. Auf die einzelnen Bänkchen verbrachte ich die frisch sterilisirten und mit je zwei Oesen frischem Milzsaft eines an Milzbrand gefallenen Thieres geimpften Nährmedien in offenen Petri'schen Schalen. Die grosse Schüssel, in welche die über dem Apparate befindliche Glasglocke einmündet, war mit 10proc. Pyrogallollösung zu einem Drittel angefüllt, und dieses zur Absperrung der Zimmerluft aussen mit Paraffinöl in dicker Lage bedeckt worden. Es wurde nun durch den U-förmig gebogenen Gummischlauch gereinigter Wasserstoff nahezu 2 Stunden lang eingeleitet. Aus der Glocke führte ein zweiter Gummischlauch in eine Waschflasche, die durch einen Quetschhahn verschlossen war; dieser wurde erst geöffnet, nachdem man annehmen konnte, dass der Apparat sich grösstentheils mit Wasserstoff gefüllt hatte. Nun wurde noch 2 Stunden lang Wasserstoff entwickelt und dieser sodann an der Capillare, die sich an der Waschflasche befand, angezündet; er verbrannte ganz ruhig, wonach also alle Luft aus dem Apparat verdrängt war. Nach Entfernung der Gummischläuche gab ich in die Pyrogallollösung mit einer Pipette die nöthige Menge ausgekochter Kalilauge unter die Paraffinschicht und liess den Apparat, der also auch abgeschlossen war gegen das Eindringen der äussern Luft, zehn Tage bei 35° stehen. Nach Ablauf dieser Zeit war die Pyrogallollösung nur schwach gebräunt; es zeigte sich auf den diversen Nährböden, als welche ich ausser Bouillon, Kartoffeln, Eibisch-

und Quittenschleim noch einen wässrigen, 10proc. Weizenauszug, sowie Schafblutserum mit 25% Traubenzuckerbouillon in Anwendung brachte, folgendes:

I. Bouillonschale.

Makroskopisch: Entwicklung.

Mikroskopisch: Längere Ketten vegetativer Formen, sowie Involutionsformen.

Die Bouillon wurde mit sterilem Platindrahte gut umgerührt, mittelst einer sterilen Pipette einige Cubikcentimeter in ein Reagensrohr gebracht, darin 2 Minuten auf 80° erhitzt und hiervon einer Maus 1 ccm injicirt. Dieselbe blieb am Leben, sowie auch in dem Rest der erhitzten Bouillon bei 37° keine Entwicklung erfolgte. Es waren mithin in der Bouillon keine Sporen gebildet worden, welches Resultat mit dem nach dem ersten Verfahren erhaltenen vollkommen übereinstimmt.

II. Kartoffelscheiben.

Makroskopisch: Weisser Belag.

Mikroskopisch: Lange Ketten vegetativer Formen.

Sporenbildung: Eine Oese des Belags in Bouillon verrieben und 2 Minuten auf 80° erhitzt, ergibt im Thermostaten reichliche Auskeimung.

III. Weizenmaceration.

Makroskopisch: Flockige Entwicklung.

Mikroskopisch: Ketten von 40 Gliedern vegetativer Formen. Sporen schon mikroskopisch deutlich sichtbar.

In Bouillon, damit geimpft, zeigt sich nach Abtödtung der vegetativen Formen starke Auskeimung.

IV. Quitten- und Eibisch-Schleim.

Makroskopisch und mikroskopisch wie bei III.

Sporenbildung wurde durch die Erhitzungsmethode festgestellt.

V. Blutserum.

Makroskopisch: Serum stark verflüssigt.

Mikroskopisch: Lange Ketten vegetativer Formen, an denen im gefärbten Zustande die Plasmahüllen[1]) deutlich wahrnehmbar gemacht werden konnten.

Drei Bouillonröhrchen (R I—III) wurden mit je einer Spirale des Serums geimpft und nach der Erhitzung auf 80° R I und R II zur Auskeimung hingestellt; dieselbe erfolgte reichlich innerhalb 24 Stunden.

Mit je 1 ccm von R III wurden zwei Mäuse geimpft, die eine geht innerhalb 28, die andere innerhalb 32 Stunden zu Grunde.

Bei der letzten Versuchsserie waren also in allen Nährmedien mit Ausnahme der Bouillon unter anaëroben Bedingungen Dauerformen entstanden.

Ueber das anaërobe Auskeimen bacillenfreier Sporen sei an dieser Stelle nur soviel erwähnt, dass dasselbe ebenfalls im Quitten- und Eibischschleim erfolgt; nach dreitägigem Verweilen bei 35° konnte ich ausserordentlich lange Ketten vegetativer Formen mit deutlichen Kapseln auffinden.

Am Schlusse meiner Arbeit angelangt, erübrigt mir, die Resultate meiner Untersuchungen zusammenzustellen.

I.

Milzbrandbacillen von normaler Virulenz und erheblicher Resistenzfähigkeit bilden bei mittleren Temperaturgrenzen innerhalb bestimmter Zeiten Sporen und zwar nicht unbeträchtlich

---

1) Die Färbung der Plasmahüllen gelingt sehr gut nach der Lüpke-Klett'schen Methode (Zur Frage der Morphologie des Milzbrandbacillus. Deutsche thierärztl. Wochenschr., Bd. 2, 1894); nach Johne (Deutsche Zeitschrift f. Thiermed., Bd. 21, 1894), Haase (Zur Morphologie der Milzbrandbacillen. Deutsche Zeitschr. f. Thiermed., Bd. 20, 1894) und Kern (Ueber die Kapsel des Anthraxbacillus. Centralbl f. Bact. und Paras., Bd. 22, S. 168; 1897) soll man bekanntlich an Milzbrandbacillen, die beliebigen Nährsubstraten entstammen, durch geeignete Färbemethoden die Kapseln sichtbar machen können, so dass der vielfach verbreiteten Anschauung, dass typische Kapseln nur im Thierkörper erzeugt werden, also auch der obige Befund widerspricht.

früher, als man auf Grund der mikroskopischen Untersuchungsmethode angenommen hat. Die Sporenbildung erfolgt

bei 37, 35 und 31° innerhalb 16 Stunden,
» 24° innerhalb 36 Stunden,
» 18° » 50 »

II.

Bei 12° sind die resistenzfähigsten Individuen der Milzbrandbacillen noch im Stande, Dauerformen zu bilden, wenngleich bei dieser Temperaturgrenze die Sporenbildung nicht mehr regelmässig erfolgt.

III.

Die bei 37° gebildeten Sporen besitzen eine grössere Widerstandsfähigkeit als die bei 31, 24 und 18° entstandenen; es scheint das Optimum der Sporenbildung ungefähr mit dem des Wachsthums der Milzbrandbacillen (37° C.) zusammenzufallen.

IV.

Während unter 12° C. keine Sporenbildung mehr stattfindet, sind bei Brutwärme gebildete Sporen im Stande, bei 12° zu vegetativen Wuchsformen auszukeimen.

V.

Die Milzbrandbacillen in ihrem vegetativen Zustande werden rasch abgetödtet, wenn sie höheren Temperaturen unter der Siedhitze ausgesetzt werden, und zwar beim Erhitzen in Bouillon auf

80° nach 1 Minute,
79° » 1½ Minuten,
78° » 2 »
75° » 3 »
70° » 4 »
65° » 5½ »

VI.

Werden Milzbrandbacillen dem schädigenden Einfluss niedriger Temperaturen ausgesetzt, so machen sie drei Stadien durch:

1. Stadium: Abnahme ihrer normalen Virulenz bis zu einem so niedrigen Grade, dass Mäuse, selbst mit enormen Bacillen-

mengen geimpft, nicht mehr erkranken, bei Erhaltung der Fähigkeit, in künstlichen Nährmedien unter günstigen Umständen sich zu entwickeln.

Im 2. Stadium verlieren sie ihr Wachsthumsvermögen, erlangen aber unter dem günstigen Einflusse der Brutwärme fast ihre normale Lebensfähigkeit und Virulenz wieder.

Im 3. Stadium sind die Bacillen, günstigen Bedingungen ausgesetzt, nicht mehr im Stande, sich zu erholen; sie erweisen sich als abgetödtet.

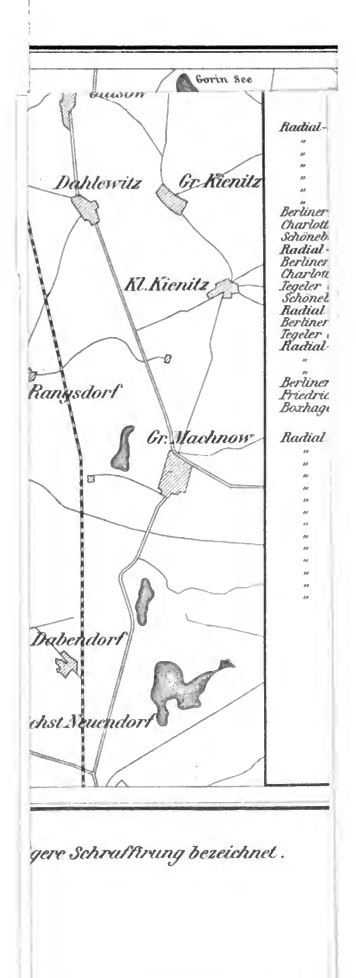
VII.

Der atmosphärische Sauerstoff übt keinen specifischen Einfluss auf das Zustandekommen der Dauerformen aus. Die Milzbrandbacillen bilden in geeigneten Nährmedien auch unter anaërobiontischen Bedingungen Sporen, von beinahe normaler Virulenz; als solche Nährmedien bezeichne ich:

1. sterile Kartoffelscheiben,
2. 10proc. Weizenauszug,
3. je 5% Quitten- und Eibischschleim,
4. festes Schafblutserum mit 25% Traubenzuckerbouillon.

VIII.

In diesen Nährmedien vermögen auch Anthraxsporen, die aërob entstanden und durch 2 Minuten lange Erhitzung auf 80° von lebenden, vegetativen Formen befreit sind, unter anaërobiontischen Bedingungen zu langen Ketten normal aussehender Bacillen auszukeimen.



gere Schraffirung bezeichnet.



